

**ENDOSULFANIN BİYOLOJİK PARÇALANMASI İÇİN  
BİYOBARİYER KULLANIMI VE MİKROORGANİZMA  
TÜRLERİNİN BELİRLENMESİ**

**THE USE OF BIOBARRIER FOR THE BIOLOGICAL  
DEGRADATION OF ENDOSULFAN AND THE  
DETERMINATION OF MICROORGANISM TYPES**

**AYLA BİLGİN**

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

ÇEVRE Mühendisliği Anabilim Dalı İçin Öngördüğü

DOKTORA TEZİ

olarak hazırlanmıştır.

2011

## KABUL VE ONAY SAYFASI

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Bu çalışma jürimiz tarafından **ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI 'nda**  
**DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Başkan :.....  
Doç.Dr. Ayşegül AKSOY

Üye (Danışman) :.....  
Doç.Dr.Selim Latif SANİN

Üye :.....  
Prof. Dr. Ayşenur UĞURLU

Üye :.....  
Prof.Dr. Cemal SAYDAM

Üye :.....  
Yrd.DoçDr. Merih AYDINALP KÖKSAL

ONAY

Bu tez ...../...../..... tarihinde Enstitü Yönetim Kurulunca kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Adil DENİZLİ  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

# ENDOSULFANIN BİYOLOJİK PARÇALANMASI İÇİN BİYOBARIYER KULLANIMI VE MİKROORGANİZMA TÜRLERİNİN BELİRLENMESİ

Ayla Bilgin

## ÖZ

Klorlu hidrokarbonlar cinsinden tarım ilaçlarının çevresel önemi, hedef dışı canlılar üzerindeki toksisitelerinin yanı sıra, ekosistemlerde çok uzun süre kalma ve yayılabilme özelliklerinden gelir. Tez çalışması kapsamında bir tür klorlu organik pestisit olan endosulfanı biyolojik olarak parçalayabilen mikroorganizmalar ve bunların uygun üreme koşulları araştırılmıştır. Kültür zenginleştirme tekniği kullanılarak topraktan üç farklı mikroorganizma suşu (*Afipia Genosp*, *Sphingomonas yanoikuyae* Q1 ve *Methylobacterium rhodesianum*) izole edilmiştir. Yapılan literatür taramasında tez çalışmasında elde edilen mikroorganizmaların endosülfanı parçaladığına yönelik olarak daha önce yapılmış bir çalışmaya ulaşılmamıştır. Elde edilen suşların endosülfanı biyolojik olarak parçalaması için uygun koşullar belirlenmiştir. Gün ışığının, pH'nın, ilave karbon kaynağının endosülfanın biyolojik parçalanması üzerindeki etkileri belirlenmiştir. 6 gün sonunda karanlık ortamda çalışan reaktörlerde  $\alpha$  -endosulfan %56,8,  $\beta$ -endosulfan %86,7, toplam ( $\alpha+\beta$ ) endosulfan %65,4 oranında biyolojik parçalanma hesaplanmıştır. Aydınlik ortamda çalışılan reaktörlerde alfa endosulfan % 64,1, beta endosulfan % 100, toplam ( $\alpha+\beta$ ) endosulfan % 77,8 oranında biyolojik parçalanma hesaplanmıştır. Karanlık ortamda yapılan çalışmalar sonucunda pH'ın endosulfan gideriminde önemli bir faktör olduğu belirlenmiştir. Endosulfan giderimi pH=6,4'te %65 iken pH=8,3'te endosulfan giderimi %80 civarında elde edilmiştir. Ek karbon kaynağı olarak glikozun eklenmesi ile endosulfan giderimi %90 olduğu hesaplanmıştır.

Çalışmanın son aşamasında kolon reaktörde biyobariyer oluşturarak endosulfan giderimi araştırılmıştır. Dolgu materyali olarak Manisa (Gördes) doğal zeoliti kullanılmıştır. Çalışma iki aşamalı sürdürülmüştür. Birinci set çalışmada, pH=6,5'te endosulfan ve mineral besisi ile sürekli besleme

yapılmıştır. İkinci kolon reaktörde ise pH=8,5'e yükseltilmiş ve ek karbon kaynağı glikoz eklenmiştir. Deney sonucunda, birinci kolon için 7,5 aylık süre sonunda endosulfan giderimi %89 olurken, ikinci kolon reaktörde 3,5 aylık süre sonunda %99 endosulfan giderimi belirlenmiştir. İkinci grup çalışmalarda, ilk grup çalışmalardan elde edilen sonuçlardan yola çıkarak aynı şartlar altında pH=6,5 değerinde endosulfan ve mineral besi ile sürekli besleme yapılmıştır. Deney sonucunda, iki adet kolon reaktörde 4 aylık süre sonunda %100 endosulfan giderim verimi elde edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Klorlu pestisit, endosulfan, biyolojik parçalanma, biyobariyer, doğal zeolit

Danışman: Doç.Dr. Selim Latif SANİN, Hacettepe Üniversitesi, Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı

# THE USE OF BIOBARRIER FOR THE BIOLOGICAL DEGRADATION OF ENDOSULFAN AND THE DETERMINATION OF MICROORGANISM TYPES

Ayla Bilgin

## ABSTRACT

The significance of chlorinated hydrocarbon type of pesticides, in addition to their toxicity on irrelevant organisms, stems from the fact that they can remain and spread in ecosystems for a long time. Within the scope of this thesis, the biological degradation conditions of endosulfan chemical, which is a chlorinated organic compound, has been researched. Three microorganisms have been obtained from the soil by applying enrichment culture technique (*Afipia Genosp*, *Sphingomonas yanoikuyae* Q1 and *Methylobacterium rhodesianum*). In the literature study, no previous research was found on the degradation of endosulfan by attained microorganisms in the thesis study. The specification of microorganisms has been carried out with PCR technique. In order to determine the biological degradation conditions of endosulfan and the types of the obtained microorganisms, batch reactor experiments have been conducted. In the first phase of batch reactor experiments, some studies were made in both light and dark environment to designate the effect of light on endosulfan degradation.

After the end of six days, for the reactors working in dark environment,  $\alpha$ -endosulfan 56,8%,  $\beta$ -endosulfan 86,7%, totally ( $\alpha+\beta$ )endosulfan 65,4% biological degradation rate has been calculated. For the reactors in light, environment alfa endosulfan 64,1%, beta endosulfan 100%, totally ( $\alpha+\beta$ )endosulfan 77,8% biological degradation rate has been calculated. As the result of experiments conducted in dark, at pH=6,4 the removal of endosulfan is at the rate of 65% and at pH=8,3 the removal of endosulfan is at the rate of 80%. As a result of studies made in dark environment it was determined that pH was an important factor in the removal of endosulfan.

Glycose, as an additional carbon source, was supplemented and the rate of endosulfan removal was calculated as 90%.

In the last phase of the research the removal of endosulfan has been analyzed by forming biobarrier in column reactor. As filling material, Manisa (Gördes) natural zeolite was used. Two sets of experiments have been conducted in a column reactor. In the first set, a constant supply of endosulfan at pH=6,5 and mineral nutrient has been provided. In the second column reactor, the rate has been raised to pH=8,5 with 0,1N NaOH and glycose was supplemented as additional carbon source. At the end of the experiment, for the first column, after 7,5 months, the rate of endosulfan removal is 89%; in the second reactor, the endosulfan removal rate was found as 99% after 3,5 months. In the second set of studies, a constant nurture of pH=6,5 endosulfan and mineral nutrient was supplied in the same environmental conditions. As the result of the experiment, after a four months period, 100% endosulfan removal was attained in two column reactors.

**Keywords:** Chlorinated pesticide, endosulfan, biological degradation, biobarrier

**Advisor:** Doç.Dr. Selim Latif SANİN, Hacettepe University, Hacettepe University, Department of Environmental Engineering, Environmental Sciences Section

## **TEŞEKKÜR SAYFASI**

Yazar, bu çalışmanın gerçekleşmesinde katkılarından dolayı, aşağıda adı geçen kişi ve kuruluşlara içtenlikle teşekkür eder.

Tez çalışmalarım boyunca vermiş olduğu bilimsel destek ve katkıları, ayrıca göstermiş olduğu maddi ve manevi destekten dolayı danışman hocam Sayın Doç. Dr. Selim Latif Sanin'e çok teşekkür ederim.

Çalışmalarımın yön kazanması, değerlendirilmesi ve sonuca ulaştırılmasında her türlü desteği sağlayan kıymetli tecrübelerinden faydalandığım tez izleme hocalarım Sayın Doç.Dr. Ayşegül Aksoy'a ve Sayın Yrd. Doç.Dr. Aşegül Latifoğlu'na, çok teşekkür ederim.

Tez laboratuvar çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen Dr.Turkay Onacak'a çok teşekkür ederim. Ayrıca zaman zaman bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım Sayın Prof. Dr.Ayşenur Uğurlu, Sayın Prof. Dr. A. Cemal Saydam, Sayın Prof. Dr. Gülen Güllü ve Sayın Yrd. Doç.Dr. Merih Aydınalp Köksal'a çok teşekkür ederim.

Mikrobiyolojik çalışmalarda gerekli laboratuvar koşullarını sağlayan, yol gösteren bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım Prof.Dr. Nedim Sultan'a ve Doç.Dr. Melahat Kurtuluş Ülküer'e, kimyasal destek sağlayan Bayer Türk Kimya San. Ltd.Şti.'ne ve Dr. Selim Karaca'ya çok teşekkür ederim

Çalışmalarım sırasında ilgi, yardımlarını ve manevi desteklerini benden esigemeyen Prof.Dr. Nilgün Balkaya, Prof.Dr. Erdoğan Hasdemir'e, Prof.Dr. Mahmut Özbay'a, Öğretim Görevlisi Ayhan Cemal Kaya ve Dr. Ferhan Kemal Kaya'ya Prof.Dr. Ertunç Gündüz'e çok teşekkür ederim. Ayrıca, çalışmalarım sırasında yardımlarından dolayı arkadaşlarım Fatma Öztürk, Nihal Ceylan, Ahmet Kılıç, Beyhan Oktar, Şeref Sertaç Çelik ve tüm arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Bu alışma sırasında ve tüm oğrenim hayatım boyunca benden maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, her zaman yanımda olan ve bana g veren annem ve babama teşekkürü bir borç bilir, saygılarımı sunarım.

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

$^{\circ}\text{C}$	Santigrat derece
AKM	Askıda Katı Madde
DDE	Dikloro difenil dikloroetilen
DDT	Dikloro difenol trikloroethan
DNA	Deoksiribonükleik asit
ECD	Elektron yakalama dedektörü
EPS	Ekstraselüler polimer madde
GC	Gaz kromatografisi
LD 50	Öldürücü doz
nm	Nanometre
NPD	Azot fosfor dedektör
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
EDS	Elektron dağılım spektroskopisi
RSD	Rölatif Standart Sapma

## İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa
1. GİRİŞ.....	1
2. YAYGIN KİRLETİCİ OLARAK KLORLU PESTİSİTLER VE ARITIM YÖNTEMLERİ .....	13
2.1 Endosulfan.....	15
2.1.1 Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri .....	16
2.1.2 Endosulfanın İnsan Sağlığı Üzerindeki Etkileri.....	19
2.1.3 Endosulfanın Çevredeki Etkileri ve Kaderi .....	20
2.1.4 Endosulfanın Transformasyonu .....	24
2.2 Biyolojik İyileştirme (Bioremediation) .....	24
2.2.1 Biobariyer .....	26
2.2.1.1 Biyofilm.....	29
3. LİTERATÜR TARAMALARI .....	33
4. ÇALIŞMANIN AMACI ve HEDEFİ.....	42
5. DENEYSEL ÇALIŞMA YÖNTEMLERİ, MATERYAL VE METOTLAR ...	44
5.1 Deneysel Yöntemler .....	44
5.1.1 Kullanılan kimyasallar.....	45
5.1.2 Mikroorganizmaların Zenginleştirilmesi ve İzolasyonu .....	45
5.1.3 Sterilizasyon Protokolleri .....	49
5.1.4 Bakteri Kültürlerinin Tanımlanması (Polimeraz Zincir Reaksiyonu Metodu) .....	50
5.1.4.1 DNA izolasyonu .....	51
5.1.4.2 Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) .....	51
5.1.4.3 PCR ürünlerinin saflaştırılması .....	52
5.1.4.4 DNA Dizi Analizi .....	52
5.1.5 Endosulfan Ekstraksiyon Protokolü.....	53
5.1.6 Endosulfan Analizleri.....	53
5.1.7 Kalibrasyon .....	54
5.1.7.1 Endosulfan stok çözeltisinin hazırlanışı: .....	54
5.1.8 Ekstraksiyon verimliliği .....	56
5.2 Glikoz Analizi .....	57
5.2.1 Mikroorganizma Kütlesinin Belirlenmesi.....	58
5.3 Elektron Mikroskop ve Enerji Yayılımlı x-Işını Spektroskopisi .....	60
5.4 Çalışmada Kullanılan Reaktörler .....	61

## İÇİNDEKİLER DİZİNİ (devam ediyor)

Sayfa

5.4.1	Kesikli reaktör.....	62
5.4.2	Kolon Reaktör .....	63
5.4.2.1	Kolon Reaktörün Doldurulması .....	64
5.4.2.2	Kolon Reaktörün Deney Düzeneği .....	65
5.4.2.3	Kolonda Tutulan Mikroorganizma Miktarının Belirlenmesi ..	65
5.4.2.4	Kolonda Taşınım Deneyleri-İz Madde Testi.....	66
5.4.2.5	E -Eğrisi Bulunması İçin Deneysel Metot.....	66
5.5	Zeolitin Kimyasal Karakterizasyonu .....	67
5.6	Biyobariyer Çalışması .....	68
5.6.1	Biyobariyerin Hidrodinamik Koşullarının Belirlenmesi .....	69
6.	SONUÇLAR.....	71
6.1	Endosulfanı Biyolojik Olarak Parçalayabilen Mikroorganizmaların İzolasyonu ve Mikroorganizma Tanımlama Çalışmaları .....	74
6.1.1	Dendrogram (Evrimsel İlişki Ağacı) .....	75
6.1.2	İzolatların referans suşlara benzerlik oranları.....	76
6.2	Endosulfan Giderim Çalışmaları .....	83
6.2.1	Endosulfan Parçalanmasında Fotodegradasyon Etkisi .....	83
6.2.2	Karışık Mikroorganizma Kültürünün Büyüme Evresi .....	84
6.2.3	Endosulfan Giderimi Kinetik Parametrelerinin Hesaplanması ...	93
6.2.4	Endosulfanın Biyolojik Parçalanmasında pH ve Ek Karbon Kaynağının Etkisi .....	96
6.2.5	Karışık Mikroorganizma Kültürünün Üreme Süreci .....	99
6.2.6	Endosulfan Biyolojik Olarak Parçalanması.....	107
6.2.7	Endosulfan gideriminin mikroorganizma üremesi ile ilişkilendirilmesi .....	114
6.2.8	Endosulfan giderimi kinetik parametrelerinin hesaplanması....	117
6.2.9	Endosulfan giderim sonuçlarının istatistiksel değerlendirilmesi .....	121
6.2.9.1	Regrasyon Analizi.....	121
6.2.10	Kesikli Reaktörlerde pH Ölçümleri için Yapılan Anova Testi	122
6.3	Biyobariyer Çalışmaları.....	126

## İÇİNDEKİLER DİZİNİ (devam ediyor)

Sayfa

6.3.1	Biyobariyer Dolgu Malzemesinin Tanımlaması .....	127
6.3.1.1	Piston Akışlı Reaktörlerde (Dolgulu Kolon) Kullanılan İz Maddenin Belirleme Çalışmaları .....	129
6.3.2	Zeolit Üzerinde Oluşan Biyofilm'in İncelenmesi.....	135
6.3.2.1	İstatistiksel Değerlendirme.....	147
6.3.2.2	Endosulfan Giderimi Sırasında Biyobariyerde Değişen Hidrodinamik Koşulların Değerlendirilmesi.....	151
7.	GENEL SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	156
	KAYNAKLAR .....	159
	EKLER .....	179
Ek.1.	Endosulfan Analizi İçin Kullanılan Kalibrasyon Tablosu.....	179
Ek 2.	Klinoptilolitinin Elek Analizi .....	180
Ek 3.	Bakteri Tanımlaması PCR Testi Sonuçları .....	182
Ek 4.	Bakteri Türlerinin Besi Yerinde Çekilmiş Fotoğrafı.....	185
Ek 5.	Endosulfan Parçalanması ve Optik Yoğunluk Grafiği .....	188
Ek 6.	Doğal zeolitinin XRF ve XRD sonuçları .....	189
Ek 7.	İzleyici Test Grafikleri.....	192
Ek 8.	SET 1. Birinci Kolon Reaktör Elektron Mikroskop Görüntüleri .....	194
Ek 9.	SET 2 İkinci Kolon Reaktör Elektron Mikroskop Görüntüleri .....	197

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 1.1. 1954-2000 yılları arasında 6 ülkede endosulfan kullanım oranları (Li ve Li, 2004).....	4
Çizelge 1.2. 2004-2008 yılları arasında pestisit üretim miktarları (Başpınar vd., 2009).....	7
Çizelge 1.3. Türkiye’de yasaklanmış pestisitler (ÇOB, 2008) .....	8
Çizelge 1.4. Toprakta pestisitlerin kalıcılığını etkileyen faktörler (Estevez vd. 2008). .....	10
Çizelge 2.1. $\alpha$ -Endosulfan ve $\beta$ -Endosulfan’ın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri (ATSDR, 2000). .....	18
Çizelge 2.2. Genel biyofilm yapısı (Sutherland, 2001). .....	31
Çizelge 5.1. Deneysel çalışmalarda kullanılan kimyasal maddeler .....	45
Çizelge 5.2 Çalışmada kullanılan besi ortamı içeriği ve kimyasallar (Atlas, 2005). .....	49
Çizelge 5.3. Wolfe’s mineral solüsyon kompozisyonu (Atlas,2005). .....	49
Çizelge 5.4. Alfa endosulfan için ekstraksiyon verimlilikleri.....	57
Çizelge 5.5. Beta endosulfan için ekstraksiyon verimlilikleri .....	57
Çizelge 5.6. Toplam endosulfan için ekstraksiyon verimlilikleri.....	57
Çizelge 5.7.Kolon reaktörün özellikleri .....	63
Çizelge 6.1. Tez çalışmasında kullanılan besi ortamının literatürde kullanılan mineral besi ortamları ile karşılaştırılması.....	73
Çizelge 6.2. Literatürde endosulfan parçalanması için çalışılan bakteri ve mantar türleri.....	82
Çizelge 6.3. Endosulfan parçalanma deney grupları .....	84
Çizelge.6.4. Işıklı ve Işıksız Ortamlarda Elde Edilen Endosulfan Giderim verimleri. ....	93
Çizelge 6.5. Literatürde verilen endosulfan parçalanma sabitleri.....	96
Çizelge 6.6. Kesikli reaktörlerde ölçülen pH değerleri.....	96
Çizelge 6.7. Endosulfanın parçalanması deney koşulları.....	98
Çizelge 6.8. Mikroorganizma büyüme hızları. ....	102
Çizelge 6.9. Endosulfan giderim sonuçları.....	111
Çizelge 6.10. Set 2 kesikli reaktör deneyleri endosulfan parçalanma sabitleri. ....	120
Çizelge 6.11. Alfa ve Beta Endosulfan parçalanması ile Optik Yoğunluk arasındaki ilişkiye belirlemek için regresyon analizi .....	122
Çizelge 6.12. Endosulfan biyolojik parçalanması için deney şartları.....	122
Çizelge 6.13. Kesikli reaktör deneyleride alfa endosulfan giderimleri için anova hesabı .....	123

## ÇİZELGELER DİZİNİ (devam ediyor)

Sayfa

Çizelge 6.14. Kesikli reaktör deneyleri alfa endosulfan giderimleri için Çoklu Değişim Aralığı Testi (Multiple Range Tests) analizi.....	123
Çizelge 6.15. Kesikli reaktör deneyleri için beta endosulfan giderimleri için anova hesabı. ....	124
Çizelge 6.16. Kesikli reaktör deneyleri beta endosulfan giderimleri için Çoklu Değişim Aralığı Testi (Multiple Range Tests) analizi.....	124
Çizelge 6.17. Kesikli reaktör deneyleri için Toplam Endosulfan giderimleri için Anova hesabı.....	125
Çizelge 6.18. Kesikli reaktör deneyleri Toplam Endosulfan giderimleri için Çoklu Değişim Aralığı Testi (Multiple Range Tests) analizi....	125
Çizelge 6.19. Doğal Zeolitin XRF analiz sonuçları. ....	128
Çizelge 6.20. Klinoptilolit yapısında bulunan önemli katyonların bazı fiziksel özellikleri.....	135
Çizelge 6.21. Doğal zeolit, kolon reaktörde zeolit yüzeyinde oluşan biyofilm ve kolon reaktörde zeolit yüzeyinde oluşan biyofilmin 550 <sup>0</sup> C'de yakılmasından sonra yapılan elektron taramalı x-ray spektroskopisi kimyasal karakterizasyonu.....	139
Çizelge 6.22. Reaktörlerdeki başlangıç bekleme süreleri (İz Madde debileri) .....	141
Çizelge 6.23. Set 1-birinci kolon için endosulfan giderimi. ....	142
Çizelge 6.24. Na <sub>2</sub> O bileşiği için anova hesabı. ....	148
Çizelge 6.25. Na <sub>2</sub> O bileşiği için Çoklu Değişim Aralığı Testi (Multiple Range Tests) analizi.....	148
Çizelge 6.26. Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> bileşiği için anova analizi. ....	149
Çizelge 6.27. SiO <sub>2</sub> bileşiği için anova analizi.....	149
Çizelge 6.28. SiO <sub>2</sub> bileşiği için Çoklu Değişim Aralığı Testi (Multiple Range Tests) analizi.....	150
Çizelge 6.29. K <sub>2</sub> O bileşiği için anova analizi. ....	150
Çizelge 6.30. K <sub>2</sub> O bileşiği için Çoklu Değişim Aralığı Testi (Multiple Range Tests) analizi.....	151
Çizelge 6.31. Biyobariyer porositesinde görülen azalmanın sistemdeki yük kaybına olan etkisi .....	153
Çizelge 6.32. Kolon reaktörün hidrodinamik koşulları .....	153

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1. 1996-2004 yılları arasında endosulfanın global kullanım miktarları (Mackay ve Arnold, 2005). .....	5
Şekil 1.2. Bir pestisit molekülünün topraktaki davranışı (Fernandez ve Grimalt, 2003). .....	9
Şekil 1.3. Pestisitlerin Kimyasal Yapılarına Göre Sınıflandırılması (Estevez vd. 2008). .....	11
Şekil 2.1. Endosulfan ve izomerleri .....	16
Şekil 2.2. Endosulfan parçalanma yolları (Walse vd., 2003). .....	17
Şekil 2.3. Endosulfan parçalanma ürünleri (Kumar ve Philip, 2006b). .....	17
Şekil 2.4. Ekolojik Sistemlerde Endosulfan Taşınımı (EPA, 2010). .....	23
Şekil 2.5. Biyobariyerin şematik gösterilmesi. A) Kirletici taşınımı B) İnjektion alanı kesit görüntüsü C) Su kanallarında biyofilm gelişiminin şematik gösterilmesi (Kim vd., 2006). .....	27
Şekil 2.6. Biyofilm oluşumunun şematik olarak gösterimi (Percival vd., 2000). .....	31
Şekil 2.7. Bakteri içeren bir biyofilmin kısımları, gr (-) (solda) ve gr (+) (sağda) CY:Sitoplazma, CM:Sitoplazmik membran, M:Peptidoglukan, OM:Dış membran, LPS:Lipopolisakkarit, C:Kapsül, TA:Teikoik asit, EPS:Hücre dışı matriks (Flemming, 1995). .....	32
Şekil 5.1. Deney Çalışmalarında Uygulanan Yöntemler .....	44
Şekil 5.2. Kültür zenginleştirme tekniği deney prosedürü gösterimi. ....	47
Şekil 5.3. Kültür zenginleştirme tekniği için toprakların alındığı yerler. ....	48
Şekil 5.4. Çalışma sırasında hazırlanan çalışma materyallerinin fotoğraflık görünümü. ....	48
Şekil 5.5. GC/ECD' de Alfa endosulfan analizi için kalibrasyon grafiği. ....	55
Şekil 5.6 GC/ECD'de Beta endosulfan analizi için kalibrasyon grafiği. ....	55
Şekil 5.7. Alfa ve beta endosulfan GC/ECD analiz sonucu örnek gösterimi. ....	56
Şekil 5.8. 0-20 mg/L arasındaki glikoz ölçümlerinde kullanılan kalibrasyon eğrisi. ....	58
Şekil 5.9. 600 nm dalga boyunda ölçülen optik yoğunluk değerinin kütlelesel olarak mikroorganizma değeri kalibrasyon grafiği .....	60
Şekil 5.10. Deney düzeneği .....	64
Şekil 5.11. Kolon reaktörden alınan zeolit örneklerinin fotoğrafı A.) Kolondan çıkarıldıktan hemen sonra B.) .550°C'de yakıldıktan sonra. ....	66
Şekil 5.12. Deneysel çalışmanın fotoğrafı .....	68
Şekil 6.1. Tez çalışmasında elde edilen mikroorganizma kültürlerinin sınıflandırılması. ....	76
Şekil 6.2. <i>Sphingomonas yanoikuyae</i> Q1 türü bakterinin SEM görüntüsü ....	78

## ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

Sayfa

Şekil 6.3. <i>Methylobacterium rhodesianum</i> türü bakterinin SEM görüntüsü...	79
Şekil 6.4. <i>Afipia Genosp</i> türü bakterinin elektron mikroskop görüntüsü .....	80
Şekil 6.5. Karanlık ortamda çalışılan (D-1) reaktör deneyi mikroorganizma büyüme grafiği. ....	85
Şekil 6.6. Aydınlik ortamda çalışılan (D-2) reaktör deneyi, mikroorganizma büyüme grafiği. ....	85
Şekil 6.7. Karanlık ortamda çalışılan (D-3) reaktör deneyi mikroorganizma büyüme grafiği. ....	86
Şekil 6.8. Aydınlik ortamda çalışılan (D-4) reaktör deneyi mikroorganizma büyüme grafiği. ....	86
Şekil 6.9. Karanlık ortamda çalışılan (D-1) reaktör deneyi için oluşan mikroorganizma miktarı.....	89
Şekil 6.10. Aydınlik ortamda çalışılan (D-2) reaktör deneyi için. oluşan mikroorganizma miktarı.....	89
Şekil 6.11. Karanlık ortamda çalışılan (D-3) reaktör deneyi için mikroorganizma miktarı.....	90
Şekil 6.12. Aydınlik ortamda çalışılan (D-4) reaktör deneyi için oluşan mikroorganizma miktarı.....	90
Şekil 6.13. Karanlık ortamda çalışılan (D-1) reaktör için toplam endosulfan parçalanması ile optik yoğunluk (600nm) grafiği. ....	91
Şekil 6.14. Aydınlik ortamda çalışılan (D-2) reaktör için toplam endosulfan parçalanması ile optik yoğunluk (600nm) grafiği. ....	92
Şekil 6.15. Karanlık ortamda çalışılan(D-1) reaktör deneyi endosulfan (alfa, beta) parçalanma sabiti.....	94
Şekil 6.16. Aydınlik ortamda çalışılan (D-2) reaktör deneyi endosulfan (alfa, beta) parçalanma sabiti.....	95
Şekil 6.17. Set-1 kesikli reaktörlerde pH=0-14 aralığında, pHdeğişimi. ....	97
Şekil 6.18. Set-1 kesikli reaktörlerde pH=6-7 aralığında, pHdeğişimi. ....	97
Şekil 6.19. Grup 1 için mikroorganizma + besin + 0,1mg/L endosulfan pH=6,5±0,1 olan ortamda mikroorganizma büyüme grafiği.....	100
Şekil 6.20. Grup 2 için mikroorganizma + besin + 0,1 mg/L endosulfan pH=8,4±0,1 olan ortamda mikroorganizma büyüme grafiği.....	101
Şekil 6.21. Grup 3 için mikroorganizma + besin + 0,1 mg/L endosulfan + 4mg/l glikoz pH= 6,5±0,1 olan ortamda mikroorganizma büyüme grafiği. ....	101

## ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

Sayfa

- Şekil 6.22. Grup 4 için mikroorganizma + besin + 0,1 mg/L endosulfan + 4mg/L glikoz pH= 8,4±0,1 olan ortamda mikroorganizma büyüme grafiği. ....102
- Şekil 6.23. *Bordetella sp. B9* türünün büyüme kinetiği (Goswami ve Singh, 2009).....103
- Şekil 6.24. Grup-1 kesikli reaktör deneyi için (mikroorganizma + besin + 0,1mg/L endosulfan pH= 6,5±0,1 oluşan mikroorganizma miktarı. ....104
- Şekil 6.25. Grup-2 kesikli reaktör deneyi için (mikroorganizma+besin +0,1 mg/l endosulfan pH=8,4±0,1) oluşan mikroorganizma miktarı. ..105
- Şekil 6.26. Grup-3 kesikli reaktör deneyi için (mikroorganizma + besin + 0,1 mg/L endosulfan + 4 mg/L glikoz pH=6,5±0,1) oluşan mikroorganizma miktarı.....105
- Şekil 6.27. Grup-4 kesikli reaktör deneyi için (mikroorganizma + besin + 0,1 mg/L endosulfan + 4 mg/L glikoz pH=8,4±0,1) oluşan mikroorganizma miktarı.....106
- Şekil 6.28. *Bordetella sp. B9* türü ile oluşan mikroorganizma miktarı .....106
- Şekil 6.29. *Aspergillus sydoni* türü ile oluşan mikroorganizma miktarı .....107
- Şekil 6.30. Grup-1 için mikroorganizma+besin+0,1mg/L endosulfan pH=6,5±0,1 olan ortamda mikroorganizma büyüme grafiği ve pH. ....108
- Şekil 6.31. Grup-2 için kesikli reaktör deneyi için mikroorganizma+besin+0,1 mg/L endosulfan + pH=8,4±0,1 olan ortamda mikroorganizma büyüme grafiği ve pH. ....109
- Şekil 6.32. Grup 3 için mikroorganizma + besin + 0,1 mg/L endosulfan + 4 mg/L glikoz + pH=6,5±0,1 olan ortamda mikroorganizma büyüme grafiği ve pH.....110
- Şekil 6.33. Grup-4 için mikroorganizma + besin olan endosulfan + pH=8,4±0,1 + 4mg/L glikoz olan ortamda mikroorganizma büyüme grafiği ve pH.....111
- Şekil 6.34. Grup 1 için mikroorganizma + besin +0,1 mg/L endosulfan + pH=6,5±0,1 olan ortamda optik yoğunluk (600 nm) ve endosulfan giderim grafiği. ....115
- Şekil 6.35. Grup 2 için mikroorganizma + besin + 0,1mg/L endosulfan + pH=8,4±0,1 olan ortamda optik yoğunluk (600 nm) ve endosulfan giderim grafiği. ....115

## ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

Sayfa

- Şekil 6.36. Grup 3 için mikroorganizma+ besin + 0,1 mg/L endosulfan + pH=6,5±0,1 ve glikoz olan ortamda optik yoğunluk (600 nm) ve endosulfan giderim grafiği. ....116
- Şekil 6.37. Grup 4 için mikroorganizma+ besin +0,1 mg/l endosulfan + pH=8,4 ±0,1 ve glikoz olan ortamda optik yoğunluk (600 nm) ve endosulfan giderim grafiği. ....116
- Şekil 6.38. Grup-1 kesikli reaktör deneyi için (mikroorganizma + mineral besin+ 0,1 mg/L endosulfan + pH=6,5±0,1) endosulfan parçalanma kinetiği. ....118
- Şekil 6.39. Grup-2 kesikli reaktörü için (mikroorganizma + mineral besin + 0,1mg/l endosulfan+pH=8,4±0,1) endosulfan parçalanma kinetiği. ....118
- Şekil 6.40. Grup-3 kesikli reaktörü için (mikroorganizma + besin +0,1 mg/L endosulfan + 4 mg/L glikoz + pH=6,5±0,1) endosulfan parçalanma kinetiği.....119
- Şekil 6.41. Grup-4 kesikli reaktörü için (mikroorganizma + besin +0,1mg/l endosulfan + 4mg/l glikoz + pH=8,4±0,1) endosulfan parçalanma kinetiği.....119
- Şekil 6.42. NaCl ve KCl, CaCl<sub>2</sub> için yapılan 21 set izleyici deney grafiği. ....130
- Şekil 6.43. Kolondan izleyici madde çıkış grafiği. ....130
- Şekil 6.44. Doğal zeolitin a) SEM görüntüsü b) Enerji Yayılımlı X-Işını Spektroskopi ile kimyasal karakterizasyonu (µm.....131
- Şekil 6.45. CaCl<sub>2</sub> ile işlem görmüş doğal zeolitin a) SEM görüntüsü b) Enerji Yayılımlı X-Işını Spektroskopi ile kimyasal karakterizasyonu .....132
- Şekil 6.46. KCl ile işlem görmüş doğal zeolitin a) SEM görüntüsü b) Enerji Yayılımlı X-Işını Spektroskopi ile kimyasal karakterizasyonu .....132
- Şekil 6.47. NaCl ile işlem görmüş doğal zeolitin a) SEM görüntüsü b) Enerji Yayılımlı X-Işını Spektroskopi ile kimyasal karakterizasyonu .....133
- Şekil 6.48. Endosulfan ile işlem görmüş doğal zeolitin a) SEM görüntüsü b) Enerji Yayılımlı X-Işını Spektroskopi ile kimyasal karakterizasyonu .....133
- Şekil 6.49. Doğal zeolitin A) SEM görüntüsü, B,C,D) Elektron taramalı X-ray spektrofotometresi kimyasal karakterizasyonu.....136
- Şekil 6.50. Kolon reaktörde zeolit yüzeyinde gelişen biyofilm 550<sup>0</sup>C'de yanması sonucu A) SEM görüntüsü B,C,D) elektron Taramalı X-ray spektrofotometresi kimyasal karakterizasyonu.....137

## ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

Sayfa

Şekil 6.51. Kolon reaktörde zeolit yüzeyinde gelişen biyofilm A)SEM görüntüsü B,C,D) Elektron taramalı X-ray spektrofotometresi kimyasal karakterizasyonu.....	138
Şekil 6.52. Dolgulu kolonları için % endosulfan giderim sonuçları (İkinci kolon glikoz ile desteklenen ve pH=8,3 olan reaktör sonuçlarını göstermektedir.).....	142
Şekil 6.53. Set -1 Birinci ve ikinci dolgulu kolonların fotoğraf görüntüsü. ....	143
Şekil 6.54. Normal şartlarda endosulfan giderimi yapılan biyobariyerlerde belirlenen biyofilm kütlesi dağılımı. ....	144
Şekil 6.55. Glikoz eklenerek ve pH kontrollü kullanılan biyobariyerde biyofilm kütle dağılımı.....	144
Şekil 6.56. İkinci grup çalışmada kullanılan biyobariyerlerin kaplanmadan önceki görüntüleri.....	145
Şekil 6.57. İkinci sette paralel olarak çalıştırılan biyobariyerlerde elde edilen endosulfan giderim sonuçları (%)......	146
Şekil 6.58. Set-2 birinci kolon reaktörde derinliğe bağlı olarak biyofilm gelişimi. ....	146
Şekil 6.59. Set-2 ikinci kolon reaktörde derinliğe bağlı olarak biyofilm gelişimi. ....	147
Şekil 6.60. Kolon 1 için yük kaybı grafiği.....	154
Şekil 6.61. Kolon 2 için yük kaybı grafiği.....	154

## 1. GİRİŞ

Tarımsal üretimde verim artışı için ileri üretim uygulamalarının yanı sıra ürünlerin, hastalık ve zararlılardan korunması gerekmektedir. Tarım ürünlerini zararlı böcekler, patojenler ve yabancı otlardan korumak için yaygın olarak pestisitlerden ve herbisitlerden yararlanılmaktadır. Pestisit kullanımı ile önemli miktarda ürün artışı sağlanmasına karşın, bu kimyasal maddelerin artan miktarlarda kullanılması çevre ve insan sağlığı üzerinde olumsuz etkilerin artışına neden olmaktadır.

Dünya'da yüzlerce pestisit türünün kullanıldığı bilinmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'nün yaptığı sınıflandırmada en çok kullanılan 700 civarındaki pestisitlerin 33'ü insan sağlığına zararlı, 48'i oldukça tehlikeli, 118'i orta derecede tehlikeli ve 139'u daha az tehlikeli grupta yer almaktadır. Dünya pestisit tüketimi 2001 yılında 3,2 milyon ton'a yükselmiştir. Pestisit tüketiminin %75'i gelişmiş ülkelere aittir. Bu ülkeler arasında ABD, Batı Avrupa ve Japonya ilk sıralarda yer almaktadır (Barlas, 2007).

ABD'de 1960'lı yıllarda pestisit kullanımı ulusal bir konu olarak görülmekte ve Federal Entegre Pestisit Yönetimi ile koordine edilmekteydi. O zamanlarda pestisit yönetimi konusunda dikkat edilen bir kaç nokta vardı. 1962 yılında Sessiz Baharın (*Silent Spring*) yayınlanması ile DDT, Dieldrin, Aldrin ve Mirex gibi çevrede kalıcılığı yüksek klorlu hidrokarbonların çevresel etkileri ile ilgili toplumsal duyarlılık yüksek seviyelere gelmiş ve 1980'lerde (Fitzner, 2002) HCH ve DDT ve lindanın kullanımının yasaklanması ile sonuçlanmıştır (Chen, 1990).

Pestisitlerin insan, çevre ve doğal denge üzerindeki olumsuz etkileri genel olarak doğrudan ve dolaylı olmak üzere iki şekilde görülmektedir. Pestisitler, insanlarda deri, ağız ve solunum yoluyla alınması sonucu doğrudan zehirlenmelere sebep olabilmektedir. İnsanların pestisitlerden dolaylı olarak etkilenmeleri ilaçlarla bulaşık besinleri tüketen hayvanların et, süt ve yumurta

gibi ürünlerinin tüketilmesi yoluyla olmaktadır. Bu durum diğer canlılar için de geçerlidir. Besin zinciri yoluyla aktarılan ilaç kalıntıları, besin zincirinin sonunda yüksek konsantrasyona ulaşabilmekte ve özellikle yabani hayatı önemli ölçüde etkilemektedir. Bunların sonucunda doğal yaşam ortamı bozulmakta, bazı türler yok olurken, bazı türler de önemli zararlara uğramakta ve doğal denge bozulmaktadır. Yoğun ve/veya yanlış pestisit uygulamaları doğal dengeyi bozmakta ve toprak, su ve hava kirliliğine neden olmaktadır (DPT, 2007).

Çevremizde, çoğunlukla tarım alanlarında olmak üzere 500'den fazla pestisit formülasyonu kullanılmaktadır. Son 50 yılda, büyüyen dünya nüfusu ile birlikte gıda maddesi üretimi, ürünlerde kalite beklentisi ve pestisitlerin kullanım miktarı büyük oranda arttı. Pestisit kullanımının yaygınlaşması ile birlikte, insanları da içeren "hedefte olmayan" organizmalara olumsuz etkisi de artmaya başlamıştır. Hedefte olmayan organizmalar için pestisit zehirliliği balık ölümleri, kuşlarda üreme bozuklukları, insanlarda çeşitli hastalıklar olarak tanımlanabilir (Rao vd., 1983; Estevez vd., 2008). Pestisitlerin % 1'den daha azının hedefte olmayan organizmalara ulaştığı tahmin edilmektedir. Pek çok pestisit ekosistemde uzun süre kalabildiği bilinmektedir. Örneğin; organoklorlu insektisitler kullanılması yasaklandıktan 20 yıl sonra bile yüzey suyunda hala bulunabilmektedir. Kalıcı bir pestisit besin zincirine girdiği zaman çevrede yüksek konsantrasyonlara ulaşabilmekte ve organizmaların vücudunda birikebilmektedir (Estevez vd, 2008).

DDT ve türevi olan klorlu hidrokarbon türü tarım ilaçlarının çevresel önemi, ekosistemlerde çok uzun süre kalma ve yayılabilme özelliklerinden gelmektedir. Bu kimyasalların kullanıldıkları yerden çok uzaklardaki ekosistemlere taşındığı ve ekosferin çok çeşitli ekosistemlerinde etkinliklerini sürdürdükleri belirlenmiştir.

Organoklorlu bileşikler; yarı uçucu, suda düşük çözünürlük yağda yüksek çözünürlük, gıda zincirinde biyolojik birikme kapasitesi, toksik özellikler ve uzak alanlara taşınma yeteneği gibi fiziksel ve kimyasal özellikleri ile

karakterize edilir (Bozlaker, 2008; Cincinelli, 2009; Cindoruk, 2011). Organoklorlu bileşikler bu özelliklerinden dolayı farklı çevrelerde ölçülmektedir. Bu bileşiklerin birçoğu yasaklanmış olmasına rağmen, dünyada birçok yerde yüksek atmosferik seviyelerde hala var oldukları rapor edilmektedir (Louie ve Sin, 2003; Sofuoglu vd., 2004; He ve Balasubramanian, 2010; Zheng vd., 2010; Cindoruk, 2011). Kalıcı organik kirlenici sınıfına giren klorlu pestisitler, doğal ortamlarda yıllarca dayanıklılık gösterip, besin zincirinde birikme özelliğine sahiptirler ve kirlilik kaynağından çok uzak mesafelere taşınabilmektedirler. Birleşmiş Milletler Programı (UNEP)'in belirlediği, "Kirlili Düzyine" olarak adlandırılan ve kimyasal yapılarında kalıcılığı sağlayan klor atomu taşıyan 12 kalıcı organik bileşik arasında, tarımda zararlılara karşı kullanılan (Aldrin, Dieldrin, Toksafen, Mireks, Heptaklor, DDT, Klordan), bazı endüstriyel bileşikler (PCB ve Hekzaklorobenzen) ve sanayi yan ürünleri (Dioksinler ve Furanlar) yer almaktadır (Çok, 2007).

Organoklorlu bileşikler grubunda yer alan endosulfan, ilk olarak 1954 yılında Frensch ve Goebel tarafından sentez edildi. 1956 yılında Hoechst AG tarafından Thiodan® ticari adı ile Avrupa pazarına girdi (Mackay ve Arnold, 2005). 2000 yılında Birleşmiş Milletlerde ev ve bahçelerde kullanımı sınırlandırıldı. 2002 yılında ABD Balık ve Yaban Hayatı Servisi, endosulfan kayıtlarını iptal edilmesini önerdi (Jane, 2006). EPA, gıda ve suda endosulfan kalıntılarının kabul edilemeyen riskler oluşturduğunu belirlemiştir. EPA, endosulfanın Amerika pazarında kalmasına izin verdi. Fakat Tarımsal kullanımlarına sınırlamalar getirdi (EPA, 2002). 2007 yılında Uluslararası çalışmalarla, endosulfan kullanımı ve ticareti kısıtlandı. Bu kararın, Ön Bildirimli Kabul olarak Rotterdam Sözleşmesi'ne eklenmesi tavsiye edildi (UNEP, 2007) ve Avrupa Birliği, Kalıcı Organik Kirleniciler Stockholm Sözleşmesi altında, yasaklanmış kimyasallar listesinde yer alması önerildi (ENB, 2008). 2009 yılında Stockholm Konferansı Kalıcı Organik Kirleniciler Komitesi endosulfanın kalıcı bir kirlenici olduğuna karar verdi ve global ölçekte yasaklanması gerektiğini belirtti (SSC, 2009). 2010 yılında Stockholm

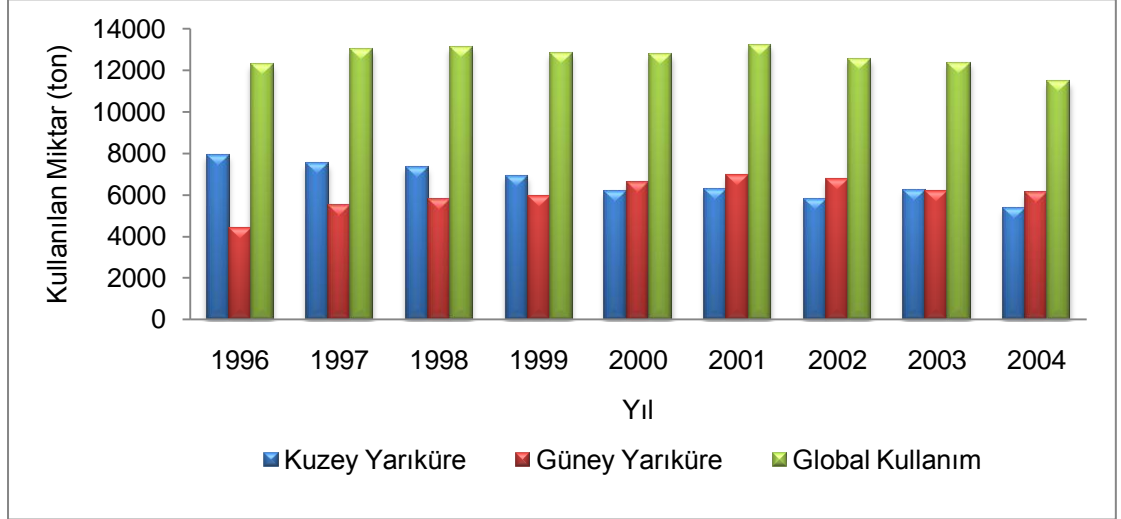
Konferansı Kalıcı Organik Kirleticiler Komitesi, Nisan 2011 yılında endosulfanın global ölçekte iptal edileceğini duyurdu (SCPOP, 2010). 2010 yılı itibari ile 69 ülkede endosulfan kullanımı yasaklandı. Fakat, hala Hindistan gibi ülkelerde kullanılmaktadır (PAN, 2010). 1954-2000 yılları arasında endosulfanın kullanıldığı ülkelerdeki kullanım oranları, Çizelge 1.1.'de verilmektedir. Çizelge 1.1.'den de görüldüğü gibi endosulfanı en fazla kullanan ülke Hindistan'dır. Endosulfan hala tarımda kullanılmaktadır. Çünkü topraktaki yarılanma süresi (60-800 gün) diğer siklodien pestisitlerden kısadır ve biyolojik olarak daha fazla parçalanabilmektedir (FAO, 2000).

Çizelge 1.1. 1954-2000 yılları arasında 6 ülkede endosulfan kullanım oranları (Li ve Li, 2004).

Ülke	Kullanım (kiloton)	Yıl
Hindistan	113	1958–2002
ABD	26	1954–2002
Brazilya	23	1958–2002
Avusturalya	21	1958–2002
Sudan	19	1958–2002
Rusya	13	1958–1991
Toplam	215	

Endosulfanın yıllık global üretimi 12,800 ton olarak hesaplanmıştır. Hindistan yıllık 5400 ton/yıl üretim ile en büyük paya sahiptir (Li ve Macdonald, 2005). Çin'de yıllık kullanım 1998–2004 süre zarfında, ortalama 2800 ton/yıl olarak hesaplanmıştır (Jia vd., 2009). Endosulfanın 1950-2000 yılları arasındaki toplam kullanılan miktarı 308,000 ton olarak hesaplanmıştır (Li ve Macdonald, 2005). Avrupa'da kullanımı (satış verilerine göre) 1995–1999 yıllarını kapsayarak, 2028 ton/yıl'dan (1995), 469 ton/yıl'a (1999) - %54 oranda - düşmüştür (Ayres ve Ayres, 2000). 1996–2004 yıllarında endosulfanın global kullanımı, Şekil 1.1.'de gösterilmiştir. Bu süre zarfında, endosulfanın kullanımı kuzey yarımkürede bir düşüş gösterirken, güney yarımkürede ise bir artış göstermiştir (Örneğin; Güney Amerika, Avustralya).

Aynı zamanda, 2000–2004 yıllarında, 12,450 ton'un üzerinde kullanımı da sürdürmüştür (Mackay ve Arnold, 2005).



Şekil 1.1. 1996-2004 yılları arasında endosulfanın global kullanım miktarları (Mackay ve Arnold, 2005).

Ülkemizde en önemli sorunların başında pestisit kullanımındaki artış ve kontrolsüz satışlar gelmektedir. Sebze-meyvedeki ilaç kalıntısı yüzünden zaman zaman ihracatta iadelerle karşı karşıya kalan Türkiye, tarım ilaçlarının kullanımını dünya standartlarına henüz taşıyamamış durumdadır. Özellikle önemli bir pazarımız olan AB'ne ihraç edilmekte olan ürünlerimizde bulunan çeşitli güvenlik sorunları nedeni ile de ihracatımız zaman zaman sekteye uğramaktadır. Örneğin; 2003 yılında AB'ye ihraç edilen gıda ve yemlerden 202 parti standartlara uygun bulunmamıştır. 2002 yılına göre bu sayıda %43 artış yaşanmıştır. 2003 yılında AB'ye ihraç edilen 54 parti bitkisel üründen 23 tanesinde toksin; 22'sinde pestisit kalıntısı neden olarak belirlenmiştir. 2004 yılı Ekim ayına kadar yapılan 73 parti ihracatta ise 32 toksin; 12 pestisit kalıntısı belirlenmiştir. AB ülkelerinde Dialifos, Bromophos, Parathion-methyl ve Nuarimol gibi tarım ilaçları insan sağlığı açısından riskli olduğu gerekçesiyle yasaklanmış olmasına karşın yasaklanan bu ilaçların halen piyasada Türk çiftçisine rahatlıkla satılmakta olduğu bilinmektedir. Yasaklılar listesindeki endosulfanın Türkiye'deki yıllık tüketim miktarı 150 bin litreyi

bulmakta, yine sakıncalı bulunan Methamidophos da yılda 320 bin litre tüketilmekte, aynı şekilde zararlı olan Parathion-methyl 250 bin litrelik satış rakamına ulaşmakta, kullanılmaya devam edilen Acephate, Aldicarb, Metalaxyl ve Parathion-methyl'in ruhsatlarının AB'de iki yıl önce kaldırıldığı bilinmektedir (DPT, 2007).

Türkiye'de, organoklorlu pestisitlerin zararlı mücadelesinde kullanılması 1945 yılında başlamıştır. Bu maddeler 1960 ve 1970'li yıllarda önemli miktarlarda kullanılmıştır. Zirai mücadele kimyasallarının kullanımı, 1983 yılından itibaren ciddi biçimde sınırlandırılmıştır. Bu maddelerin yerine, organoklorlu pestisitler ile aynı derecede kalıcılık göstermeyen ve metabolitleri organoklorlu pestisitlerden daha az zehirli olan endosulfan türevleri kullanılmaya başlanmıştır (ÇOB, 2008). FAO (2006) kayıtlarına göre, 2010 yılında yasaklanana kadar, endosulfan Türkiye'de pamuk tohumu, üzüm, lahana, patates türleri ve fındık üretiminde kayıtlı olarak kullanılmakta idi. Fakat, hala Türkiye'de sucul yaşamda, yüksek konsantrasyonlarda tespit edilmektedir (Ayas vd., 2007). Türkiye'de endosulfan kalıntılarının varlığı değişik çevresel ortamlarda ve gıda maddelerinde belirlenmiştir. Doğu Anadolu bölgesi (Atasoy, 2009), Akdeniz bölgesi topraklarında (Adana yöresi) (Turgut, 2010a), Ege kıyılarında bulunan Dilek Milli Parkı su ve sediman örneklerinde (Turgut, 2010b), Konya İli'nde tüketilen balık türlerinde (Kalyoncu, 2009), Afyonkara Hisar İline ait kaymak ve tereyağı örneklerinde (Bulut, 2010) endosulfan kalıntılarına rastlanmıştır. Türkiye'de yaygın olarak bulunan salyangoz türü üzerinde yapılan bir araştırmada düşük dozlardaki endosulfanın bu canlı üzerinde histopatolojik etkileri olduğu belirlenmiştir (Otludil, 2004). Ayrıca insanlardan alınan doku örneklerinde de endosulfan kalıntısı belirlenmiş (Çok, 2010) ve endosulfana bağlı akut toksisite vakaları da rapor edilmiştir (Durukan, 2009). Bu makaleler, endosulfanın yaygın olarak çevremizde bulunduğunu ve taşındığını göstermesi açısından önemlidir.

Türkiye’ de tarımsal kimyasal üretim incelendiğinde bazı kimyasalların üretim ve/veya kullanımının yıllar içerisinde dalgalanmalar gösterdiği, bazılarının ise sürekli arttığı, Çizelge 1.2’de görülmektedir. Çizelge 1.2. incelendiğinde, insektisitlerin gerek üretim miktarı ve gerekse üretim değeri bakımından tüm tarım ilaçların içerisinde birinci sırada olduğu görülmektedir. Bunu sırasıyla fungusitler, herbisitler ve diğerleri izlemektedir. İsektisitlerin üretim miktarları yıllar itibarıyla yaklaşık 10.000-16.000 ton aralığında seyretmektedir. Fungisitler yaklaşık 7.500-12.000 ton, herbisitler ise 6.500-8.700 ton aralıklarında üretilmektedir. Burada dikkat çeken durum, insektisit, fungusit ve herbisit üretiminde yıllara bağlı olarak miktar bakımından dalgalı bir üretim seyri ortaya çıkmış olmasıdır. Buna karşın, akarisit, fumigant ve bitki gelişim düzenleyicisi üretimlerinde artış eğilimi gözlenmektedir. Bu bilgiler ışığında genel bir değerlendirme yapılacak olursa, Türkiye’de üretilen aktif madde sayısında pek bir değişim olmadığı, üretimin ihtiyaca ve ihracata bağlı olarak belirli bir aralıkta yıllar itibarıyla değişim gösterdiği söylenebilir. Ancak, akarisit, fumigant ve bitki gelişim düzenleyicisi üretimlerindeki artış, bu maddelere olan talebin de arttığını göstermektedir. Bitki koruma ürünleri’nin üretiminde, son yıllarda örtü altı yetiştiriciliğindeki artışa paralel olarak bir yükselme olduğu söylenebilir (Başpınar vd., 2009).

Çizelge 1.2. 2004-2008 yılları arasında pestisit üretim miktarları (Başpınar vd., 2009).

İlaçlar	Üretim (2004)	Üretim (2005)	Üretim (2006)	Üretim (2007)	Üretim (2008)
	Ton	Ton	Ton	Ton	Ton
Insektisit	11.017,1	13.425,8	15.901,9	13.727,2	10.342,0
Akarisit	389,5	800,3	814,4	1.237,2	1.401,6
Fumigant	250,1	356,2	675,4	220,3	1.695,9
Bitki Gelişim Düzenleyicisi	228,5	683,5	635,9	680,2	798,9
Fungisit	8.176,2	9.562,7	12.031,1	7.464,9	8.110,8
Herbisit	6.418,8	8.793,0	8.763,0	7.591,2	8.745,0

Dünya’da toplam pestisit üretimi yıllık 3 milyon ton civarındadır. Zirai mücadele kimyasallarının parasal değeri ise yaklaşık 30 milyar €’dur (Delen, 2008). Türkiye’de, %47’si insektisit, %24’ü herbisit, %16’sı fungusit ve %13’ü diğerleri olan pestisit üretimi, yıllık ortalama 33.000 ton preparat ve parasal

değer olarak 230-250 milyon dolardır (Turabi, 2007). Dünya pestisit piyasasındaki payın %80'i gelişmiş ülkelerin iken Türkiye'nin payı %0.6'dır (Kantarıcı, 2007; Öztürk, 1997).

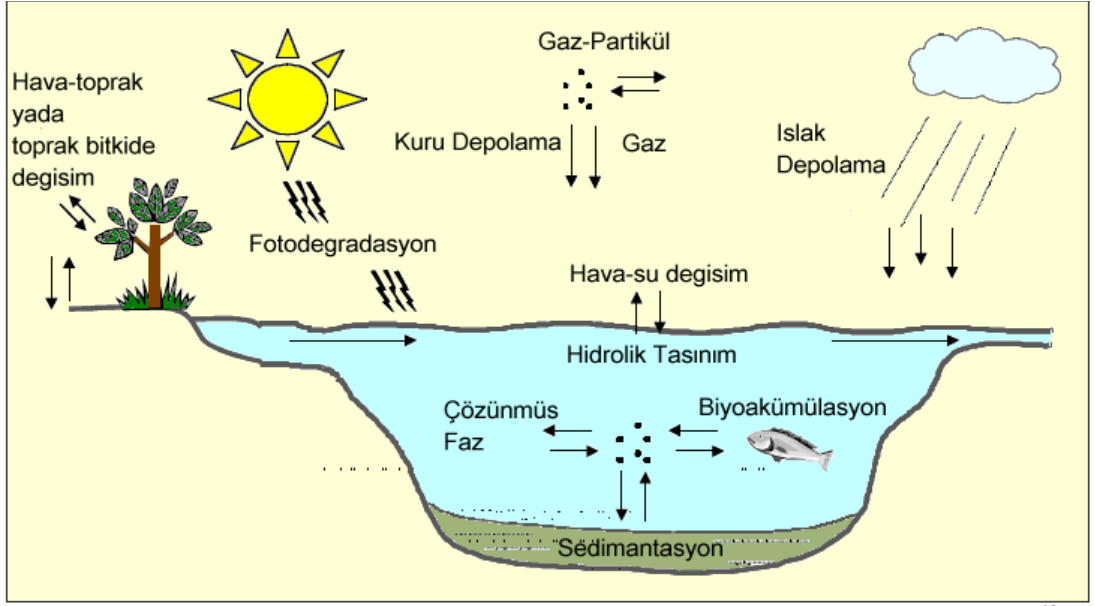
Bazı ülkelerde kalıcı organik klorlu pestisitlerin kullanımının sınırlandırılması ve yasaklanmasına paralel olarak Türkiye'de de gerekli önlemler alınmıştır. Aldrin, dieldrin, heptaklor, DDT, klordan ve toxaphene kullanımı 1968 yılından başlayarak sınırlandırılmıştır. Aldrin ve heptaklorun toprağa uygulanması yasaklanırken, bu maddelerin tohumlara uygulanmasına izin verilmiştir. Bu yıllarda, HCH'ye ilişkin herhangi bir sınırlama getirilmemiştir. Ancak, bazı uygulamalardan sonra yabancı otlar üzerinde HCH, samanda DDT kalıntılarına rastlanmıştır. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı tarafından yasaklanan pestisitler, Çizelge 1.3.'de özetlenmiştir (ÇOB, 2008).

Çizelge 1.3. Türkiye'de yasaklanmış pestisitler (ÇOB, 2008)

Pestisit	Yasaklanma Tarihi
Dieldrin	1971
Aldrin	1979
Endrin	1979
Lindan	1979
Heptaklor	1979
Klordan	1979
E-Parathion	1979
2,4,5-T	1979
Leptephos	1979
Klordimeform	1979
Metilmerkury	1982
Arsenik bileşikleri	1982
Klorbenzil	1982
DDT	(Sınırlama 1978) 1985
BHC	(Sınırlama 1978) 1985
Florodifen	1987
Klorpropilat	1987
Dinoseb	1988
Daminozid	1989
Toksofen	1989
Zineb	1991
Azinfos etil	1996

Artan, küresel gıda ihtiyacını karşılamak için üretilen ürünleri korumak adına zararlılar ile devamlı bir mücadele vardır. Kişi başına düşen tarım alanı geçen 50 yıl boyunca hızla azalmaktadır. Pestisitlerin farklı ortamdaki

davranışları, bu maddelerin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin yanı sıra, çevre koşullarının bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. Pestisit kaderindeki bu çok boyutluluk, Şekil 1.2’de verilmektedir (James ve Collins, 2007).



Şekil 1.2. Bir pestisit molekülünün topraktaki davranışı (Fernandez ve Grimalt, 2003).

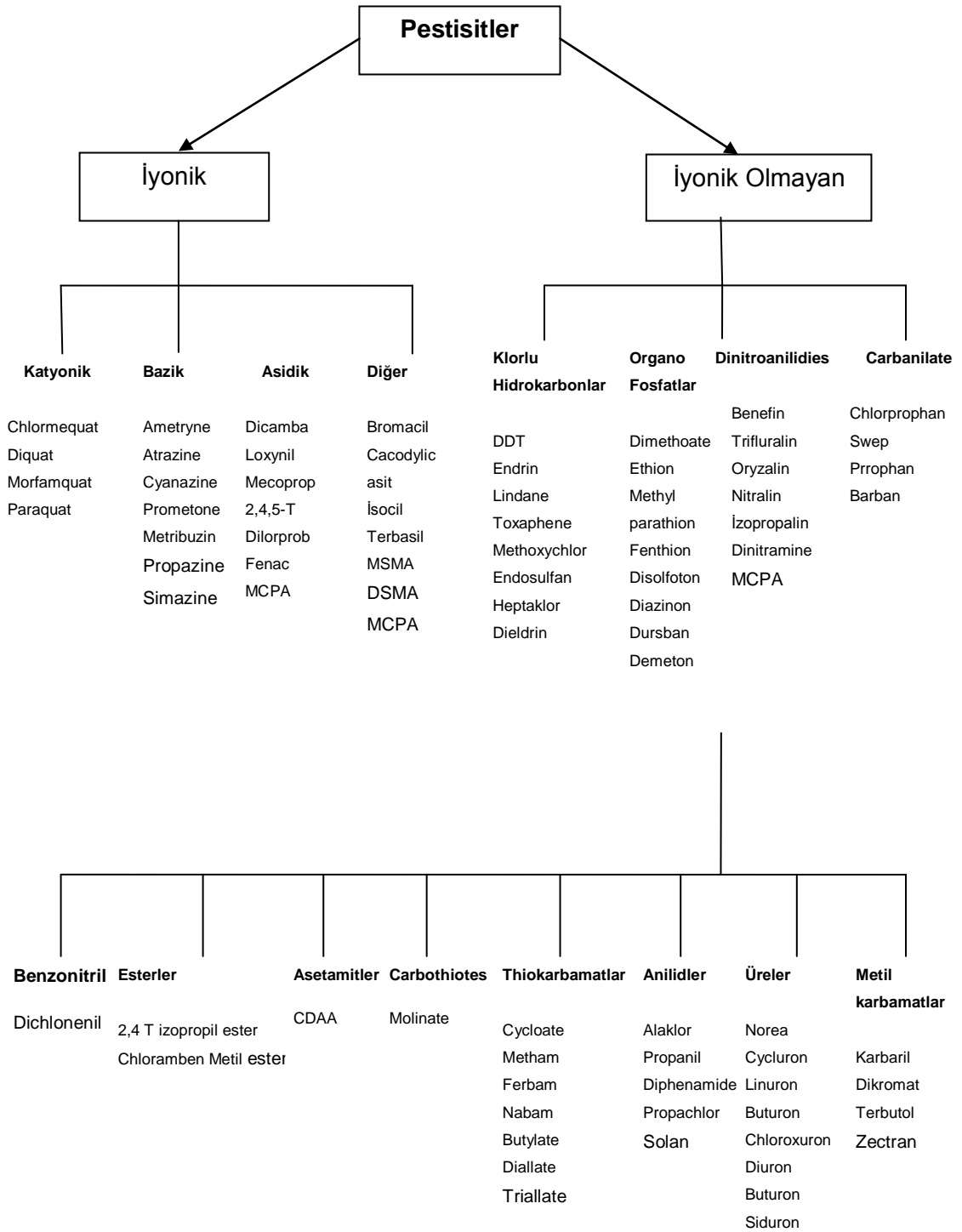
1940’larda DDT ile kullanıma giren sentetik pestisitler, ilk yıllarda yaygın olarak sivrisinekler ile mücadele için kullanılmıştır. Başlangıçta pestisit kullanımı ile gıda üretiminde önemli artışlar meydana gelmiştir. Ancak, yakın dönemde kontrolsüz kullanımın olumsuz yönleri ortaya çıkmıştır. İnsektisit ve herbisitlerin yaygın kullanımı ile pestisitlere dirençli böcek ve bitkiler gelişmektedir (Pepper vd, 2006).

Günümüzde, kullanılan pestisitlerin büyük çoğunluğu fiziko-kimyasal özelliklerine göre sınıflandırılmaktadır. Moleküler boyutları, suda çözünürlükleri, polarlaşma özellikleri ve uçuculukları anahtar özellikleridir. Fakat bir veya iki özelliği baskın etkiye sahiptir. Pestisitler hedef böceğe göre, kullanılan bileşiklerin kimyasal yapısına göre ya da sağlık tehlikesi tip ve derecesine göre pek çok farklı yol ile sınıflandırılabilir (Geavo vd, 2000).

Pestisitlerin toprakta kalıcılığını etkileyen faktörler, Çizelge 1.4'de ve kimyasal yapılarına göre pestisit grupları, Şekil 1.3.'de verilmektedir.

Çizelge 1.4. Toprakta pestisitlerin kalıcılığını etkileyen faktörler (Estevez vd. 2008).

Pestisit	Toprak/Alan	İklim	Uygulanan Metotlar
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Kimyasal yapısı</li> <li>✓ Uçuculuk</li> <li>✓ Çözünürlük</li> <li>✓ Formülasyon</li> <li>✓ Konsantrasyon</li> <li>✓ Uygulama <ul style="list-style-type: none"> <li>• Metot</li> <li>• Zaman(yıl ve gün)</li> <li>• Sıklık</li> <li>• Miktar</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Konum <ul style="list-style-type: none"> <li>• Kot, eğim, yön, coğrafik konum</li> <li>• Bitki (türü, yoğunluğu, dağılımı, alanın geçmişi)</li> <li>• Fauna (türü, yoğunluğu, dağılımı, alanın geçmişi)</li> <li>• Mikrobiyal popülasyon (türü, yoğunluğu, dağılımı, alanın geçmişi)</li> <li>• Gübre, kireç ve yeşil gübre bitkisinin kullanımı</li> <li>• Diğer pestisit ve kimyasalların kullanımı</li> <li>• Çiftçilik, ekme, drenaj, sulama (tipi, derinliği, miktarı, zamanlama ve sıklığı)</li> <li>• Yakma, örneğin; ürün kalıntılarının yanması</li> <li>• Bitişik arsa (kuşatmak, alan sınırları, su sınırı)</li> <li>• Kimyasalların varlığı</li> </ul> </li> <li>✓ Toprak tipi <ul style="list-style-type: none"> <li>• Karışımı özellikle kil içeriği</li> <li>• Yapısı, sıkıştırma</li> <li>• Organik madde ve humus içeriği</li> <li>• Toprak nemi, sızıntı</li> <li>• pH</li> <li>• Mineral iyon içeriği</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rüzgar, hava hareketi</li> <li>• Sıcaklık, güneş radyasyonu</li> <li>• Yağmur, bağıl nem, buharlaşma</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Parsel boyutları, düzenleme</li> <li>• Tekrar sayısı</li> <li>• Örnekleme sıklığı</li> <li>• Örnek boyutu, şekli</li> <li>• Ölçüm değişkenleri için teknikler</li> </ul>



Şekil 1.3. Pestisitlerin Kimyasal Yapılarına Göre Sınıflandırılması (Estevez vd. 2008).

Pestisitler toprağa uygulandıktan sonra fotodegradasyona uğrayabilir, havada taşınabilir ve bitki yaprakları tarafından adsorbe edilebilir. Pestisitler toprağa girdiği zaman çeşitli dönüşüm formlarına maruz kalırlar. Basit kimyasal prosesler örneğin, hidrolize uğrayabilirler. En önemlisi mikroorganizmalar tarafından biyokimyasal reaksiyonlar ile dönüşüme uğramasıdır. Mikroorganizmalar maddeyi karbon kaynağı olarak kullanabilir (metabolik parçalanma) veya asıl karbon kaynağı ile birlikte (kometabolik) parçalayabilir (Richter vd., 1996).

Bazı kimyasal pestisitlerin yeraltısuyunda taşınımı diğerlerinden daha fazladır. Bu taşınımlar, çözünürlük, adsorpsiyon, kalıcılık ve toprak faktörleridir. Toprak, pestisitlerin taşınımı ve parçalanmasında önemli bir faktördür. Toprak karakteristiğini; toprak yapısı, toprak permeabilitesi ve toprak organik maddesi etkilemektedir (Waxman, 1998).

## 2. YAYGIN KİRLETİCİ OLARAK KLORLU PESTİSİTLER VE ARITIM YÖNTEMLERİ

Bu bölümde, klorlu pestisitlerin çevre ve insan sağlığına etkileri ve taşınımları hakkında bilgi verilmiştir. Ayrıca, çalışmanın konusu olan endosulfan kirleticisinin kimyasal yapısı, çevresel etkileri, doğal çevredeki taşınım yolları, biyolojik iyileştirme (bioremediation), biyobariyer ve biyofilm konusunda bilgi verilmektedir.

Klorlu organik bileşikler, Birleşmiş Milletler Çevre Koruma Ajansı tarafından öncelikli kirleticilerin en büyük grubu olarak tanımlanmıştır (Wackett, 1996). Klorlanmış hidrokarbonlar genellikle sadece C-H ihtiva eden organik maddelerde (alifatik veya aromatik) hidrojen iyonunun klor iyonu ile yer değiştirmesi sonucu elde edilir. Bu bileşiklerin faydalı kullanımlarının yanı sıra çevreye olan olumsuz etkileri de gündemdedir. Klorlu bileşiklerin çevre kirliliğine sebep olmalarının başlıca iki nedeni vardır; öteki gruplara göre daha çok kullanılmaktadır ve doğal şartlara dayanıklıdır.

Klorlu pestisitlerin içinde en uzun ömürlüsü DDT'dir. DDT'nin %95'inin bozunması için geçen zaman yaklaşık 10 yıldır. Bunu dieldrin, endrin, lindan, klordan, heptaklor ve aldrin takip eder. Ancak aldrinin bile bozunma ömrü 2 yılın üstündedir. DDT'nin böcek öldürücü özelliklerinin keşfi ile birlikte, böcek kontrolünde büyük bir bilimsel başarı olarak görülmüş ve yaygın kullanımına neden olmuştur. II.Dünya savaşı boyunca insan sağlığını tehdit eden böceklerin kontrolünde; DDT kullanımının yanı sıra, tarımsal böcek kontrolünde başarısı organoklorlu pestisitlerin gelişimini ve sentezini teşvik etmiştir. Savaş boyunca yaygın olarak kullanılmıştır. Başlangıçta bu bileşiklerin canlılarda birikimi nedeni ile hedef olmayan organizmalarda oluşan olumsuz etkiler geç fark edilmiştir (Gündüz, 1998).

Organoklorlu pestisitlerin 5 temel grubu vardır: DDT ve türevleri, heksasikloheksan (HCH), siklodienler, toxafen ve bununla ilgili bileşikler, karışık kafes yapıdaki bileşikler ve klordekandır. Bu gruplar kimyasal

yapılarına göredir. Grup karakterizasyonunu yapmak zordur. Toksik etkileri oluşur.

DDT ve onun türevlerinde 10 tanesi dikofol (Kelthane®), DDD (TDE), Bulan®, klorfenol (DMC), chlorobenzilate, chloropropylate, DFDT, ethylan (Perthane®), methoxychlor, ve prolan ticari pestisitlerdir. Bu bileşiklerden bazıları farklı özelliklere sahiptir. Örneğin; metabolizmanın yavaşlaması ve DDT'nin depolanması dikkat çekicidir. Metaboliti DDE'nin aksine hızlı metabolizma faaliyeti göstermekte ve metoksiklor depolanması ihmal edilmektedir.

Hekzakloro hekzan (HCH) sekiz izomer içermektedir, γ izomer lindan iyi bilinen bir bileşiktir. DDT ve onun türevlerine benzer bir şekilde farklı özellikler dikkat çekmektedir.

İsodrin, dieldrin, endrin, telodrin, heptaklor, isobenzan, klordan ve endosulfan içerenler siklodienler olarak tanımlanan bileşiklerdir. Bu grup çok toksik kirleticileri içermektedir. Pestisitlerden toksafen, kimyasalların karışık bir kompozisyonunu içermektedir ve bu tür pestisitlerin pek çoğu hala tanımlanamamıştır.

Organoklorlu pestisitlerin genel özelliği, yağlarda yüksek çözünürlüğe sahip olmalarıdır. Bu eğilim n-oktanol/su dağılım katsayısı olarak ifade edilir. Organoklorlu pestisitler bu özellikleri ile canlıların yağ dokularında birikim gözlenmiştir. Dokulardaki kalıntı miktarı, gelişmiş ülkelerde organoklorlu pestisit kullanımının engellenmesinden dolayı hızlı bir şekilde azalmaktadır. Öte yandan, pek çok gelişmemiş ülkede hala bu problem devam etmektedir (Lawrance, 2003).

Organoklorlu pestisitlerin özelliğinden biri çevrede kalıcılığıdır. Kalıcılık, fiziksel çevrede ve organizmada yarılanma ömrünün uzunluğuna bağlıdır. Organoklorluların kalıcılığı; sıcaklık, ışık, pH, mikro fauna, makro fauna,

toprak kolloidlerinin doğası, toprak içerisindeki hava ve su akışı ve nem gibi fiziksel özelliklere bağlıdır. Bir kısmı da doğada bulunan mikroorganizmalarla biyolojik olarak parçalanmaktadır (Lawrance, 2003).

## 2.1 Endosulfan

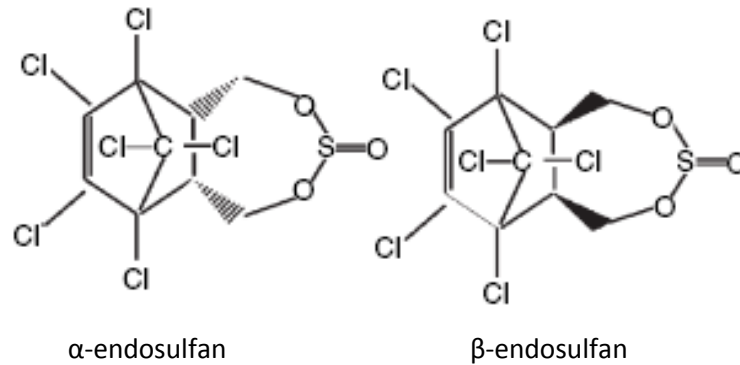
Endosulfan (6,7,8,9,10,10-hekzakloro-1,5,5a,6,9,9a-hekzahidro-6,9-metano-2,3,4-benzo-dioxathiepin-3-oksit, CAS No. 115-29-7) meyve, sebze, tahıl, yağlı tohumlar, bakliyat, çay, kahve ve pamuk da dahil olmak üzere birçok farklı ürünler üzerinde böcek kontrolü için kullanılan geniş spektrumlu bir insektisittir. Teknik endosulfan 7:3 oranında alfa ve beta olmak üzere iki stereoizomerden oluşur. Endosulfan ve izomerleri, Şekil 2.1.'de gösterilmektedir. İzomerlerin ikisi de toksittir (Goebel vd. 1982; ATSDR, 2000; Awasthi vd, 2000; Jenni vd., 2005; Bajaj, 2010). Endosulfan piyasada agrosulfan, aginarosulfan, endorifan, hildan, redsun, seosulfan ve thiodan olmak üzere farklı isimlerde bulunmaktadır. Tarımda geniş ölçekte kullanıldığını için su ve toprak sedimentinde kirletici rol oynamaktadır (Barlas vd. 2006; Dutta vd. 2006; Jayashree ve Vasudevan, 2006). Yararlı toprak mikroorganizmalarına ve hedef dışı böcekler olumsuz etkiler yaptığı bilinmektedir (Santos ve Monteiro, 1994; Vig vd., 2006). Üstelik insanlarda sağlık problemlerine de neden olmaktadır (Saiyed vd., 2003; Jamil vd., 2004).

Endosulfan balıklara ve sucul omurgasızlara aşırı derecede toksik, kuş türlerine orta derecede toksik, bakteri, mantar ve memeli hücrelerinde mutajenik etkiler göstermektedir. Yaygın kullanımı, çevrede kalıcılığı ve toksisitesinin yüksek olmasından dolayı tehlikeli maddeler sınıfında yer almaktadır. Endosulfan ile kirlenmiş atıkların kontrolünde federal kurallar uygulanmaktadır (ATSDR, 2000; Awasthi vd, 2003). Toprakta, endosulfanın çevresel kaderi pek çok araştırmada çalışılmış ve  $\beta$ -endosulfanın,  $\alpha$ -endosulfandan daha kalıcı olduğunu rapor edilmiştir (Rao ve Murty, 1980; Elbeit vd., 1981; Kaur vd., 1998). Endosulfanın iki izomerinin farklı davranış

göstermesi farklı buharlaşma, fotodekompozisyon, alkali hidroliz etkilemektedir (El Beit vd., 1981; Goebel 1982; Cotham ve Bidelman 1989). Düşük oksijen koşullarında veya anaerobik çevrede, örneğin denizsuyu, sediment yada çamur, endosulfan hemen endosulfan diol dönüşmektedir. Endosulfan diol, endosulfan izomerlerinin toksisitesi düşük olan bileşiklerindedir (Guerin, 1999).

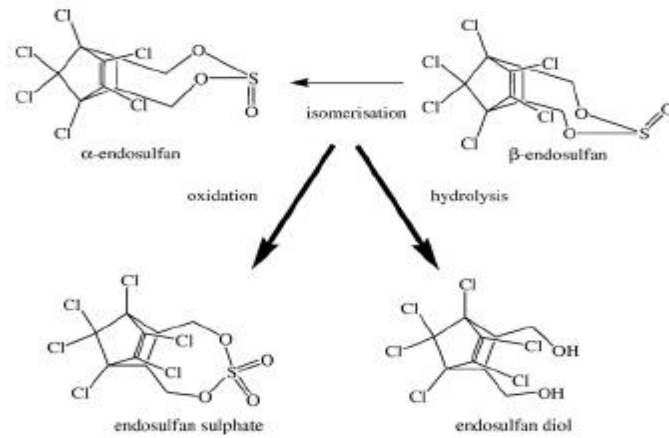
### 2.1.1 Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Teknik sınıf endosulfan en az % 94 saflıktadır.  $\alpha$ - ve  $\beta$ -endosulfan iki saf izomeri içerir. Endosulfanın  $\alpha$ - ve  $\beta$ -izomerleri 7/3 oranındadır. Teknik ölçekli endosulfan % 2 endosulfan alkol ve %1 endosulfan eter içerir. Endosulfan sulfat teknik endosulfanın bir reaksiyon ürünüdür.  $\alpha$ -endosulfan ve  $\beta$  endosulfan benzer insektisidal özelliklere sahiptir (Goebel vd, 1982). Fakat, fizikokimyasal özellikleri farklıdır (Cotham vd, 1989;. Singh vd., 1991; Peterson ve Batley, 1993). Çevrede biyotransformasyon ile oksidasyonun bir sonucu fotoliz ile oluşur. Kimyasal formül yapısı, endosulfan izomerleri ( $\alpha$ -endosulfan,  $\beta$ -endosulfan) olarak, Şekil 2.1.'de gösterilmektedir.  $\alpha$ -endosulfan ve  $\beta$ -endosulfanın fiziksel ve kimyasal özellikleri, Çizelge 2.1'de verilmektedir.  $\beta$ -endosulfan yavaş olarak  $\alpha$ -endosulfana çevrilir.

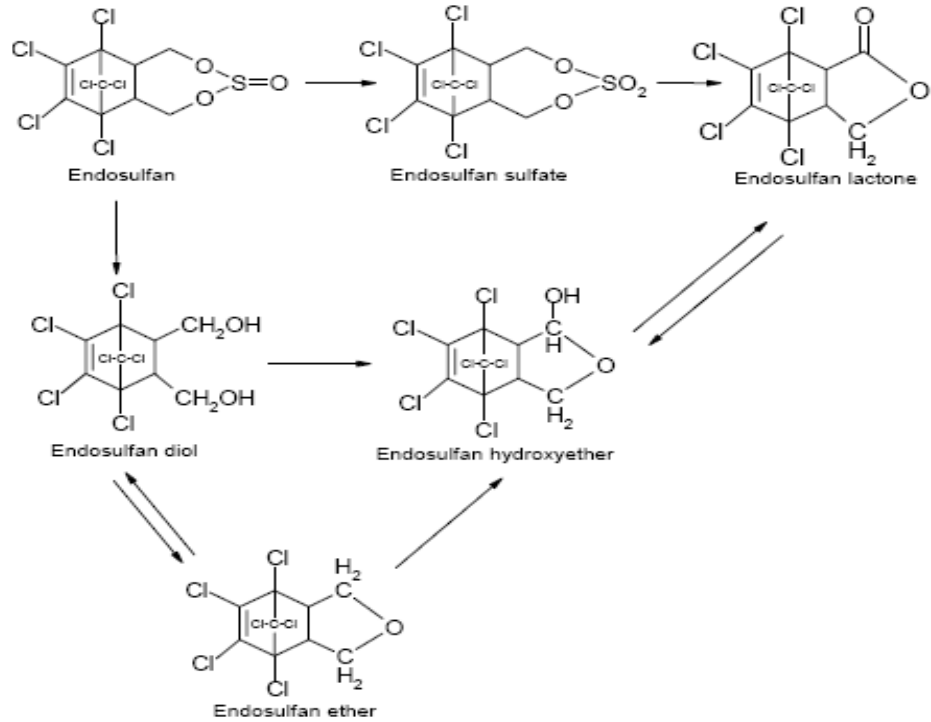


Şekil 2.1. Endosulfan ve izomerleri

Endosulfan çevrede biyotik ve abiyotik parçalanmaya uğrayarak su ortamında; oksidasyon yolu ile endosulfan sülfat veya hidroliz yolu ile endosulfan diole dönüşmektedir. Endosulfan diol ise endosulfan eter, endosulfan  $\alpha$ -hidroksieter yada endosulfan laktona parçalanabilmektedir (Walse vd., 2003). Alfa ve beta endosulfan parçalanma grafiği, Şekil 2.2.'de verilmektedir. Endosulfan parçalanma ürünleri, Şekil 2.3'de gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Endosulfan parçalanma yolları (Walse vd., 2003).



Şekil 2.3. Endosulfan parçalanma ürünleri (Kumar ve Philip, 2006b).

Çizelge 2.1.  $\alpha$ -Endosulfan ve  $\beta$ -Endosulfan'ın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri (ATSDR, 2000).

Karakteristiği	Bilgi	Bilgi
Kimyasal İsmi	$\alpha$ -Endosulfan	$\beta$ -Endosulfan
Synonym	Endosulfan I; Endosulfan A; 6,9-Methano-2,4,3-benzodioxathiepin, 6,7,8,9,10,10-hexachloro-1,5,5a,6,9,9a-hexahydro-, 3-oxide (3 $\alpha$ ,5 $\alpha$ $\beta$ , 6 $\alpha$ , 9 $\alpha$ $\alpha$ , 9 $\beta$ )-	Endosulfan II; Endosulfan B; 6,7,9,10,10-Hexachloro-1,5,5a,6,9,9a-hexahydro-6,9-methano-2,4,3-benzodioxathiepin-3-oxide, (3 $\alpha$ , 5 $\alpha$ , 6 $\beta$ , 9 $\beta$ , 9 $\alpha\alpha$ )-
Ticari İsimleri	$\alpha$ -Benzoepin; $\alpha$ -Thiodan; Thionex	$\alpha$ -Benzoepin; $\alpha$ -Thiodan; Thionex
Kimyasal Formülü	C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>6</sub> O <sub>3</sub> S	C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>6</sub> O <sub>3</sub> S
CAS numarası	959-98-8	33213-65-9
Moleküler ağırlık	406.93	406.93
Renk		
Saf	Renksiz	
Teknik	Kremden kahverengiye; çoğunlukla bej	Krem ya da sarımsı kahverengi
Fiziksel durumu	Kristal katı	Kristal katı
Erime noktası	108–110 <sup>o</sup> C	207–209 <sup>o</sup> C;208–210 <sup>o</sup> C 212 <sup>o</sup> C
<b>ÇÖZÜNÜRLÜK</b>		
Suda 22 <sup>o</sup> C (pH 7.2)	0.15 mg/L 0.32 mg/L	0.33 mg/L
Suda 25 <sup>o</sup> C	0.53 mg/L	0.28 mg/L
Organik çözücüler 20 <sup>o</sup> C	Pek çok organik çözücüde çözünür	Pek çok organik çözücüde çözünür
Parçalanma Katsayısı		
Log Kow	3.83	3.52
Log Koc	3.55	Veri yok
Su basıncı 25 <sup>o</sup> C	1x10 <sup>-5</sup> mmHg	1x10 <sup>-5</sup> mmHg
Henry Sabiti 25 <sup>o</sup> C	1x10 <sup>-5</sup> atm m <sup>3</sup> /mol 1.01x10 <sup>-4</sup> atm m <sup>3</sup> /mol	1.91x10 <sup>-5</sup> atm m <sup>3</sup> /mol

### **2.1.2 Endosulfanın İnsan Sağlığı Üzerindeki Etkileri**

Endosulfan, solunum ve deri yolu ile vücuda alınabilir. Endosulfanın akut semptomları baş dönmesi, mide bulantısı, ishal, solunum güçlükleri, çarpıntı ve güç kaybı gibi merkezi sinir sistem bozukluklarıdır. Bazı durumlarda ölümlerle sonuçlanabilir. ABD, Kolombiya, Benin, Hindistan, Malaysia, Sudan, ve Filipinler'de akut toksisiteye bağlı ölümler rapor edilmiştir. ABD'de yaşanan bir olayda endosulfan maruziyeti ile çiftçilerin biri ölmüş ve diğerinde sürekli sinir sistemi zayıflığı meydana gelmiştir (Brandt, 2001). Benin Borgou eyaletinde pamuk mevsiminde zehirlenme sonucu pek çok ölüm meydana gelmiştir. Resmi kayıtlara göre, en az 37 insan ölmüş ve 36 kişide ciddi rahatsızlıklar oluşmuştur. Resmi olmayan kayıtlara göre ise en az 70 kişi olduğunu rapor edilmiştir (Myers, 2000). Güney Sulawesi, Endonezya da 1990-1993 yılları arasında pestisit zehirlenmeleri rapor edilmiştir. Kayıtlara göre 153 zehirlenmeden, 32 tanesinin endosulfandan dolayı olduğu belirtilmiştir (PANAP, 1996). Sudan'da 1988 yılında, sulama kanalında endosulfan varillerinin yıkanması sonucu balık ölümleri meydana gelmiş ve kanaldan içme suyu amacıyla kullanan 3 kişi ölmüştür. 1991 yılında endosulfana maruz kalmış yiyeceklerin yenilmesi ile 31 kişi ölmüştür (PAN-UK, 1991). 1994 yılında, Kolombiya'nın Kahve Yetiştiricileri Komitesi Bölümü'nde endosulfandan dolayı 155 zehirlenme kayıt edilmiştir. 1993 yılında Kuzey Amerika Pestisit Faaliyetleri Kuruluşu Kolombiya'da kahvede endosulfanın kullanımı sonucu 1 ölüm ve 60 zehirlenme meydana geldiğini rapor etmiştir (PANUPS, 1994).

Farelerde yapılan deneylerde endosulfan maruziyetinde kronik sublethal etkiler görülmüştür. EPA raporunda endosulfan potansiyel endokrin bozucu gibi hareket edebileceği belirtilmiştir. Bunun anlamı, endosulfan, normal hormon ürünleri ve aktivitelerinde araya girme potansiyeline sahiptir. Endokrin bozulmasının etkileri; gelişim problemleri ve kanserin farklı tiplerinde artıştır. Özellikle gelişmiş ülkelerde esas sebep düşük protein diyetlerinden meydana gelmektedir (Lu vd., 2000). Gelecekteki problemler, endosulfana maruziyet artması, insan hücrelerinde genotoksik etkiler

olabileceği ve endosulfanın mutajenik problemlere yol açabileceği belirtilmiştir (Sanaha, 2003).

### **2.1.3 Endosulfanın Çevredeki Etkileri ve Kaderi**

Endosulfanın canlı türler üzerindeki etkileri hızlı ve yok edicidir. Endosulfan özellikle sucul canlılar için çok toksiktir. Araştırmalar sublethal dozda (LD50 %50), endosulfana maruziyette, balıklarda biyokimyasal ve davranış bozuklukları olduğunu göstermiştir. 1995 yılında, endosulfanın pamuk tarlalarından akarsulara taşınması ile Alabama (ABD) da balık ölümleri gözlenmiştir (PANUPS, 1996). Benzer bir şekilde Hindistan (Surendranath, 2001), Benin (Ton vd., 2000), Sudan (Dinham, 1993), Almanya ve Avustralya'da yoğun balık ölümleri rapor edilmiştir. Trent Üniversitesi'nde amfibiler üzerinde yapılan araştırmada kurbağa ve kara kurbağasının düşük endosulfan dozu konsantrasyonları içeren yumurtalar ile beslenen yırtıcı hayvanlarda kaçınılmaz davranış bozukluğu meydana gelmiştir (Raloff, 1998).

Kalıcı organik kirleticilerin hormonlar, bağışık sistemi ve üreme üzerinde uzun dönem güç fark edilen etkileri vardır. Kanada'da endosulfanın balıklara toksisitesi olması nedeni ile açık alanlardaki sularda endosulfan kullanımına yönelik düzenlemeler getirilmiştir. Bununla beraber, pestisit alansal sulamasında 3 metreden daha düşük spreyleme yapılması ve Avustralya'da ultra düşük hacimde endosulfan ürünleri engellenmiştir (Raloff, 1998).

Bugün tarımda kullanılan pestisitlerin %85'i herbisitler, %13'ü insektisitler kalan %2'si de fungusitlerdir. Bütün bu pestisitler toksiktirler ve aşırı dozda kullanımı akut ve kronik etkilere neden olurken, bir kısmı da her gün kullanılması durumunda bile çok az toksik etkisi olabilir (Olsen ve Tschirley, 1990).

Endosulfan atmosferde ıslak ve kuru depolanarak uzak alanlara transfer olmaktadır (NRCC, 1975). Örneğin; endosulfan Kanada da endüstriyel ve kentsel kirlilik alanlarının uzağındaki alanlarda ve toplanan yağmur örneklerinde belirlenmiştir. Yağmur suyunda endosulfan konsantrasyonu alfa izomeri için 1-2 ng/L ve beta izomeri için 4-5 ng/L olarak belirlenmiştir. Mevsimsel dönemlerde endosulfan ilkbahar ve yaz yağmuru örneklerinde belirlenmesine rağmen, güz ve kış yağmuru örneklerinde belirlenmemiştir (Strachan vd., 1980).

Endosulfan, ilaçlanmış bitki yüzeyinden ve yüzey suyundan buharlaşma sonucu olarak atmosfere yayılmaktadır (EPA, 1979). Buhar basıncı (25 °C de  $1 \times 10^{-5}$  mmHg; 20 °C de 0.83 mPa) ve endosulfan izomerleri için Henry sabiti 25 °C de  $1 \times 10^{-5}$ – $2.6 \times 10^{-5}$  atm.m<sup>3</sup>/mol'dur. Endosulfan sülfat su yüzeyinden daha yavaş buharlaşır (Cotham ve Bidleman, 1989).

Laboratuvar çalışmaları ve sera gazı çalışmaları  $\alpha$ - ve  $\beta$ -endosulfanın toprakta güçlü bir şekilde adsorbe olduğunu göstermiştir (El Beit vd., 1981).

Endosulfan karasal ya da sucul ekosistemde yüksek konsantrasyonda biyoakümülyasyon olmamaktadır. Sucul çevrede endosulfana sürekli maruziyet sonucunda 1-2 hafta içinde balıklarda genellikle pik seviyeye ulaşmaktadır.

Endosulfanın polar çözücülerle, sulamadan sonra, laboratuvar testlerinde ve bitki yapraklarının güneş ışığına maruziyeti ile  $\alpha$ -endosulfan ve  $\beta$ -endosulfan izomerleri oluşmaktadır. Alfa endosulfan izomerinin izomerizasyonu ile beta izomeri oluşur ve çok kararlıdır. EPA (1982) tarafından endosulfan için fotolitik yarılanma ömrü 7 gün olarak rapor edilmiştir. Başlangıç fotoliz ürünleri endosulfan diol ve fotoparçalanma ürünü ise endosulfan  $\alpha$ -hidroksieterdir.

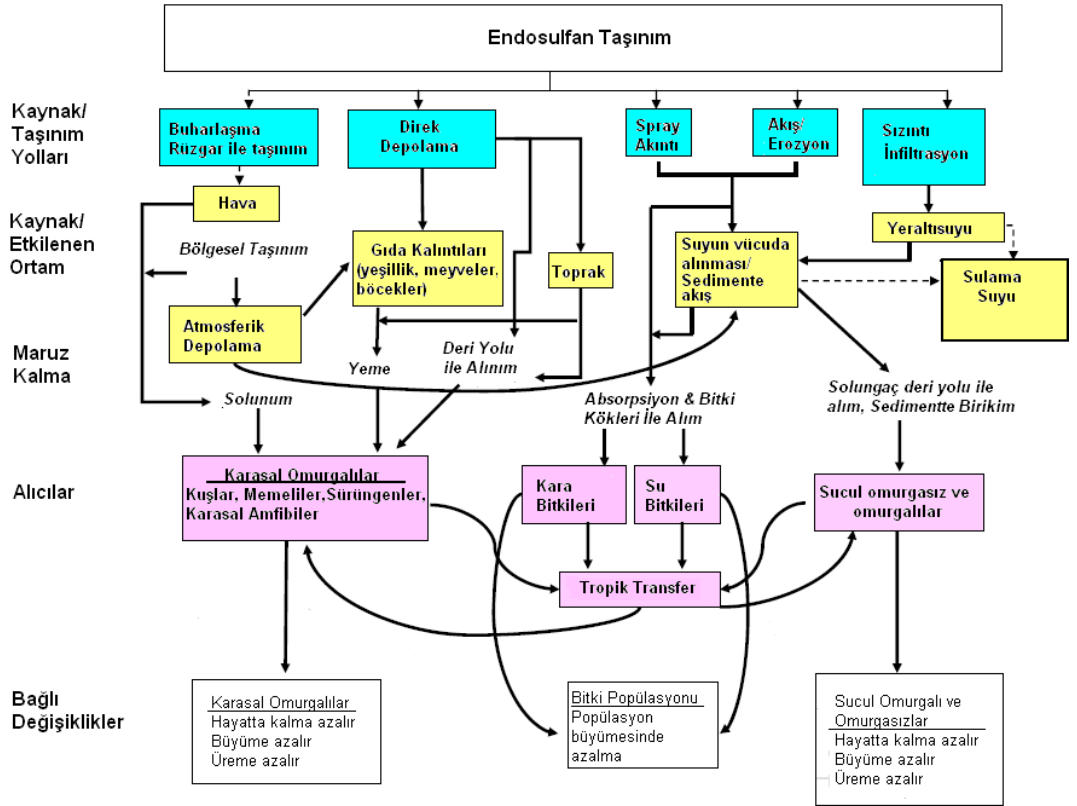
Endosulfan yüzey suyu ve yeraltısuyunda hidroliz yolu ile endosulfan-diole dönüşmektedir. Hidroliz oranı pH'dan etkilenmektedir.  $\alpha$ - ve  $\beta$ -endosulfan kimyasal parçalanması aerobik ve anaerobik ortam koşullarının her ikisinde de çalışılmıştır. Aerobik koşullar altında endosulfanın hidrolizi ve oksidasyonu oluşur iken; anaerobik koşullar altında sadece hidroliz oluşur. pH 7 de anaerobik koşullar altında  $\alpha$ - ve  $\beta$ -endosulfan için hidrolitik yarılanma ömrü sırası ile 35 ile 37 gündür (Greve ve Wit, 1971). Yarılanma ömrü, pH=5.5'de ise  $\alpha$ - endosulfan için 151 ve  $\beta$ -endosulfan için ise 187 gündür. Aerobik koşullar altında yarılanma ömrü azalmaktadır. pH=7'de kimyasal parçalanma (hidroliz ve oksidasyon) sonucu  $\alpha$ - ve  $\beta$ -endosulfan yarılanma ömürleri sırası ile 23 ve 25 gün iken, pH=5'te yarılanma ömrü 54 ile 51 gündür. Musluk suyunda endosulfanın yarılanma ömrü yaklaşık 68 saattir. 20°C'de pH=5.5 ve 8.0'de, saf suda  $\alpha$ -endosulfanın yarılanma süresi sırasıyla 11,3 ve 5.3 gündür (Kaur vd., 1998).

Dipsuyu ve sedimanda endosulfan biyotik ve abiyotik transformasyona uğramaktadır.  $\alpha$ - ve  $\beta$ -izomeri için yarılanma ömrü biyotik testlerde sırası ile yaklaşık 5 ile 2 gün olarak belirlenmiştir. Dip suyunda pH=8 ve üzerinde steril koşullar altında  $\alpha$ -izomeri için yarılanma ömrü 2-3 gün ve  $\beta$ -izomeri için yarılanma ömrü 1-2 gündür. Yarılanma ömrü, dipsuyunda deniz suyundan uzundur. Çünkü pH=7.3–7.7 gibi düşük değerdir. Testlerde  $\alpha$ - ve  $\beta$ -izomeri için yarılanma ömürleri sırası ile 22 ve 83 gündür. Endosulfan diol temel metabolit olarak tanımlanmaktadır (Kathpal vd., 1997).

Endosulfanın toprakta serbest kalması muhtemelen fotoliz (toprak yüzeyinden), hidroliz (alkali koşullar altında) veya biyodegradasyon ile olmaktadır. Endosulfan çeşitli çalışmalarda, toprak mikroorganizmaları ile biyodegradasyona uğramaktadır. Biyotransformasyon aerobik ve anaerobik koşullarda oluşmaktadır. Toprakta aerobik inkübasyon ile endosulfanın parçalanması sonucu endosulfan sulfat (30–60%), endosulfan diol (2.6%), ve endosulfan lakton (1.2%) oluşmaktadır. Anaerobik inkübasyon sonucu

endosulfan diol (2–18%), endosulfan sulfat (3–8%), ve endosulfan hidroksieter (2–4%) oluşmaktadır (Miles ve Moy, 1979).

Endosulfan hidrofobik (log Kow~3.98) bir bileşiktir. Endosulfanın her bir izomerinin yarılanma değeri farklı laboratuvar koşullarında pek çok araştırmacı tarafından gösterilmiştir. Örneğin; (Miles ve Moy, 1979) nötral pH koşullarında beta izomeri için 40 gün alfa izomeri için 88 gün olarak yarılanma ömrünü belirlemişlerdir. Endosulfanın iki izomeri çok asidik koşullar altında uzun süre kalıcıdır. Endosulfanın bir metaboliti olan endosulfan sülfat, suda çok az bir şekilde çözünmekte ve partiküller ya da kolloidler ile bağlatılı olmaktadır. Çünkü endosulfan ve onun metaboliti hidrofobiktir (ATSDR, 1990). Doğada endosulfan taşınımı, Şekil 2.4.'de gösterilmektedir.



Şekil 2.4. Ekolojik Sistemlerde Endosulfan Taşınımı (EPA, 2010).

#### **2.1.4 Endosulfanın Transformasyonu**

Endosulfanın parçalanması, abiyotik ve biyotik prosesler ile meydana gelmektedir. Mikroorganizmalar ile endosulfan sülfatın oksidasyonun içeren parçalanma oluşumu iki temel reaksiyon ile olmaktadır. Hidroliz suda endosulfanın parçalanması için temel yollardan biridir. Literatürde endosulfanın her iki izomerinin de sıcaklığa bağlı olarak, alkali hidrolize dayanıksız olduğu belirtilmektedir. Beta izomerinin parçalanması, alfa izomeri ile karşılaştırıldığında daha hızlıdır. Güçlü alkali koşullarda (pH>9) ve sulu fazda endosulfanın yarılanma ömrü yaklaşık olarak 1 gündür (Goebel vd., 1982).

Endosulfan sucul çevrede ve alkali koşullarda hızlı bir şekilde hidrolize olmaktadır. Fakat, asidik koşullarda hidrolizi düşüktür. Buna ek olarak bu reaksiyonların sıcaklığa duyarlıdır. Kimyasal reaksiyon oranları sıcaklığın artması ile artar (Case, 2010).

Endosulfanın parçalanması için alkali şartların gerekliliği ve görece yüksek sıcaklık ihtiyacı, yeraltı suyunda yerinde iyileştirme uygulamalarının zor olacağını göstermektedir.

## **2.2 Biyolojik İyileştirme (Bioremediation)**

Geçmiş yıllarda sanayideki kontrolsüz büyüme ile gelen kirlilik, en çok yeraltı suyunun bozulmasında etkili olmuştur. Yüzey sularındaki serbest oksijen ve diğer gerekli kimyasallara görece daha etkin erişim, kirleticilerin biyotik veya abiyotik parçalanma oranını artırmaktadır. Benzer şekilde, nokta kaynakların kontrolü ve arıtımı daha kolay sağlanabilmektedir. Öte yandan, yeraltı sularındaki kirleticilerin varlığı ve giderimi, miktar ve yaygınlık nedeni ile çözülmeyi bekleyen oldukça ciddi bir çevre problemidir (Gilliom, 1995).

Toprak ve yeraltı suyundaki yapısal zorluklar (heterojenite, gözeneklilik, süreksizlikler) analitik ve fizikokimyasal engeller (düşük konsantrasyonlar,

tutuklanma gibi) yeraltı suyu arıtımında kendine özgü iyileştirme tekniklerinin gelişmesine neden olmuştur.

Yeraltı sularında oldukça yavaş seyrelme ve parçalanma sayesinde kirlilik uzun sürelidir. Kirlilikteki kalıcılığın temel nedeni, su hızındaki düşüklüğün yanı sıra biyotik ve abiyotik reaksiyonlar için, sıcaklık, oksijen, gibi kimyasalların eksikliği ve tutuklanma prosesidir. Kirlilikteki kalıcılık, arıtımı nerede ise imkansız hale getirirken, iyileştirme proseslerinin uygulanmasını da çözümü zor mühendislik problemleri haline getirmektedir. Eskiden en pratik yeraltı suyu iyileştirme uygulaması olarak bilinen pompalama-arıtma prosesi yetersizliği ve uzayan süreçle birlikte artan maliyetleri nedeni ile güncel uygulamalarda yerini yeraltı suyu kirliliklerinin mikroorganizmalar kullanılarak yerinde arıtılmasına bırakmıştır (Olsen ve Tschirley, 1990).

Birden fazla uygulamayı içeren “Biyolojik iyileştirme” süreçleri gelişmekte olan proseslerden biridir. Mikroorganizmalar kullanılarak kirleticilerin temizlenmesini hedefleyen biyolojik iyileştirme arıtımı sürecini yerinde veya kirliliğin dışında uygulanmasına imkan sağlayan prosesler bütünüdür (Vallero, 2010). İyileştirmede kullanılan biyolojik proses, sadece ekonomik yönden değil, süreçteki esneklik nedeni ile kimyasal ve fiziksel metotlardan daha üstündür ve tercih edilmektedir. Biyolojik iyileştirme sürecinde en etkin yapının biyofilmdir. Biyofilmin arıtımdaki giderim potansiyeli yakın zamanda açıkça ortaya konmuştur (Paul vd., 2005; Singh vd., 2006).

Biyolojik parçalanma, belkide dünyada en yaygın doğal proseslerden biridir (Höhener ve Aelion, 2010). Biyolojik parçalanma (aerobik biyolojik parçalanma) oksijenli ortamda veya (anaerobik biyolojik parçalanma) oksijensiz ortamda organizmalar kullanılarak besin içerisinde organik veya inorganik maddelerin parçalanarak atıkları geri dönüştürmenin doğal yoludur (Gan vd., 2009).

Biyolojik iyileştirme, bozulan veya değişen ekosistem kalitesini iyileştirmek için kullanılan mühendislik uygulamalarıdır. Biyolojik iyileştirme, hiç bir zaman ekosistemde eski haline dönüşü hedeflemez.

### 2.2.1 Biobariyer

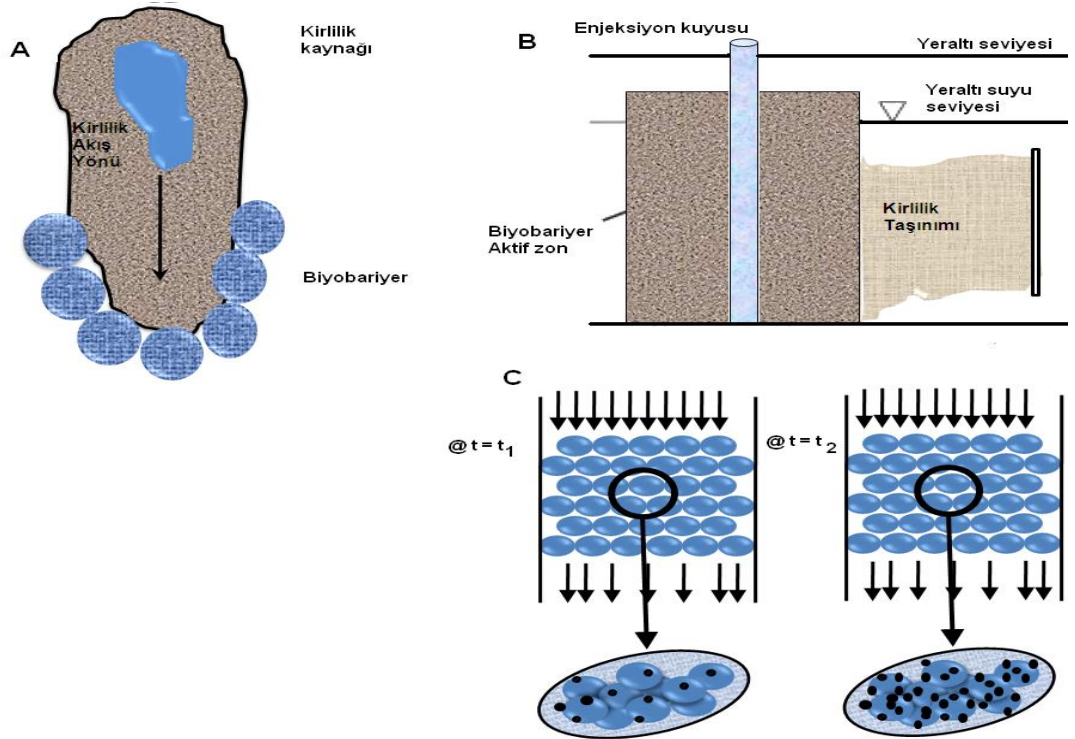
Biyolojik iyileştirme teknolojileri *ex-situ* ve *in-situ* olarak sınıflandırılmıştır. *Ex-situ* teknolojiler arıtma prosesi için kirletici materyalin alan dışında başka bir yerde fiziksel arıtımını içerir. Bunun tam tersine *in-situ* “yerinde” teknolojiler kirleticinin bulunduğu bölgede arıtılmasını veya sabitletmesini içerir (Boopathy, 2000). Biobariyer son yıllarda üzerinde çalışılmaya başlamış, etkin ve ekonomik yerinde-arıtım teknolojisidir. Bu sistemde, arıtım kirletilmiş bölgede tanımlı bir hacim içine gerekli biyolojik ve abiyotik maddelerin kontrollü olarak yerleştirilmesi ile sağlanır. Dolgu maddesi yüzeyindeki biyofilm, arıtım prosesini gerçekleştiren mikroorganizmaları içerir (Charpentier ve Kojouharov, 2003; Charpentier vd, 2009). Biobariyer uygulamasında başarılı olmak için; kirleticinin kaynağı ve konsantrasyonu, kirleticinin kimyası ve toksisitesi, kirletici bileşiğin çözünürlüğü, taşınımı, adsorpsiyonu, dağılımı ve uçuculuğu, yeraltı suyu kimyası, fiziksel özellikleri ve mikrobiyolojisi, kirlenmiş alandaki toprağın kimyası ve mekanizması, kirlenmiş alanın hidrojeoloji ve hidrolojisi, çevresel koşullar ve besin kaynakları, kirleticilerin biyolojik parçalanabilirliği araştırılmalıdır.

Biobariyer uygulamalarında, anaerobik ve aerobik proseslerin birlikte yürütülebilmesi sürecin kalıcılığını sağlar. Aerobik iyileştirme için öncelikle yeraltı suyunda bulunan oksijen kullanılır. Gerekli hallerde sisteme oksijen de sağlanabilir (Farhadian vd., 2008). Sistem gerekli hallerde anaerobik koşullar için de tasarlanabilir.

Biobariyerler, geleneksel geçirimsiz bariyerlere (örneğin; çamur veya beton duvarları) alternatif olarak ortaya çıkan, belli bir yerden yer altı suyuna doğru akışı kontrol etmek veya engellemek için tasarlanmış yeni bir teknolojidir.

Genel olarak biyobariyerlerin amacı, özel parçalayıcıları mikroorganizmaları korumak ve çevresel koşullardaki değişkenliğe bağlı olarak onların kaybını engellemek ve mikroorganizma yoğunluğunu akış özelliklerini bozmadan arttırmaktır (Alvarez ve Illman, 2006).

Biyobariyer doğal ortamlarda kirletici yayılımını kontrol etmek için geliştirilmiş bir biyoteknoloji uygulamasıdır. Bu teknolojiye uygun substrat yada elektron alıcısı ile beraber mikroorganizmalar toprak içine yerleştirilmiş geçirimli ve geometrik özellikleri tanımlı bölgelere enjekte edilir. Mikroorganizmalar taşıyıcı malzeme yüzeyine sabitlenir ve biyofilm gelişir. Hücre dışı polimerler (EPS) bu sistemde çoklu fonksiyon üstlenmiştir. EPS, gözenekli ortamda biyofilm yapının gelişmesini, mikrobiyal yapıya adsorpsiyon, desorpsiyon, yüzeyde büyüme, kopma ve filtrasyon gibi proseslerin etkinliğini belirler (Kim vd., 2006).



Şekil 2.5. Biyobariyerin şematik gösterilmesi. A) Kirletici taşınımı B) İnjektion alanı kesit görüntüsü C) Su kanallarında biyofilm gelişiminin şematik gösterilmesi (Kim vd., 2006).

Biyobariyer, yayılı kirliliği engelleme görevini biyobariyerin gözenekleri arasından taşınan kirleticiyi bariyer üzerinde bulunan mikroorganizmalar yardımı ile parçalayarak gerçekleştirir (Şekil 2.5. A). Biyobariyer şematik olarak Şekil 2.5'de gösterilmektedir. Biyobariyer, mikroorganizmaları toprağın üst kısmından temeline kadar enjekte ederek hazırlanabilir (Şekil 2.5. B). Etkin “Yerinde Biyolojik İyileştirme” (*in-situ* bioremediation) için gözeleli yapının, biyofilmin gelişmesine bağılı olarak tıkanması engellenmelidir. Biyobariyerde tıkanmayı kontrol etmek için kullanılabilen parametreler sınırlıdır. Debinin, besi maddelerinin miktarlarının kontrolü veya periyodik oksitleme en etkin yöntemlerdir.

Kirleticinin biyolojik olarak parçalanması için gerekli besi maddelerinde (Ca, Mg, N, Fe, P, vb.) bariyer ortamında bulunması gereklidir. Besi maddeleri biyobariyere dışarıdan eklenebileceğı gibi, gerekli besi maddelerinin biyobariyeri üzerinde taşıyan dolgu maddesinden sağlanması tasarımda tercih edilir (Kim vd., 2006).

Biyobariyerde giderimin etkin parametresi zaman içinde gelişen biyofilmdir ve bu yapının heterojen oluşu (farklı ortamlarda yaşayabilen mikroorganizmalar, ekstraselüler polimer dolgu maddesinin farklı yerlerinin istila edilmesi vb.) sisteme çok büyük bir esneklik sağlar. Biyofilmler, gözenekli ortamda, katı matriks yüzeyinde, gözenek boşluklarını işgal ederek ve gözenek boğazındaki sıvı akışını engelleyerek büyür. Gözenekli ortamda biyokütlenin gelişmesi gözenekli yapının hidrolik özelliklerinde (porozite, permeabilite) değişikliklere neden olur (Ebigbo vd., 2010).

Literatürde yer alan, sınırlı sayıdaki makalede biyobariyer metodu farklı kirleticilerin arıtımında kullanılmıştır. Klorlu bileşikler olan trikloroetilen (TCE) ve klorlu bir bileşik olan, PCE ile kirleticinin arıtımında biyobariyer uygulaması (Kao vd., 2001; 2003(a); 2003 (b)), pilot ölçekte biyobariyer çalışması yaparak krom ile kirlenmiş akiferlerin biyolojik olarak iyileştirilmesi (Jeyasingh vd., 2010), herbisit türü olan atrazinin geçirimli biyobariyer çalışması yapılarak biyolojik parçalanması (Hunter ve Shaner, 2009), benzin

bileşimlerinden olan metil tert bütül eter (MTBE) ve diğer benzin bileşikleri (benzen, toluen, etilbenzen, xylene) için geçirimli biyobariyer ile biyolojik parçalanmasını çalışmışlar (Saponaro vd., 2009), 2,4,6, triklofenolün ardışık geçirimli biyobariyer kullanılarak biyolojik parçalanması (Choi vd., 2007), poliaromatik hidrokarbon (PAH) biyolojik parçalanmasında biyofilm bariyer çalışmışlardır (Seo vd., 2009).

Literatürde, zeolit üzerinde biyofilm gelişimi ve endosulfan arıtımı konusunda çalışma bulunmamaktadır. Doğal zeolit gözenekli bir yapıya sahiptir ve mikroorganizmalar için uygun tutunma yüzeyi oluşturmaktadır. Ayrıca katyonik maddelere olan yüzey afinitesi, mikroorganizmalar için gerekli besi maddelerinin sistemde tutulmalarını sağlayabilir ve dışarıdan madde eklenmesi gereği ortadan kalkar.

#### **2.2.1.1 Biyofilm**

Biyofilm, bir yüzeye tutunarak kendi ürettikleri polimerik yapıda jelsi bir tabaka içinde yaşayan mikroorganizmaların oluşturduğu topluluk olarak tanımlanabilir (Leone vd., 2006). Bu jelsi tabaka, bakteri hücreleri tarafından üretilen terminolojide “hücre dışı polimerik yapı”, “ekzopolisakarit” ya da “ekzopolimer (EPS)” adı verilen polisakkarit bazlı bir ağ yapısıdır (Fujishige vd., 2006).

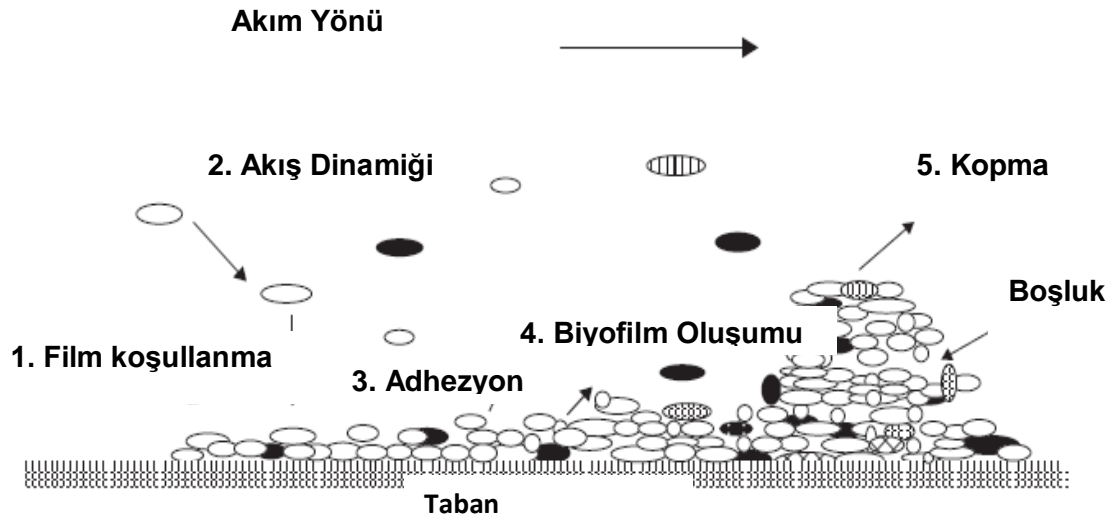
Biyofilm tek bir bakteri türünden oluşabileceği gibi bakteri, fungi, alg ve protozoolardan oluşan bir konsorsiyum da içerebilir. Biyofilm matriksinin yaklaşık %97’si mikrobiyal hücrelerin kapsüllerini bağlayan sudur. Biyofilm matriksi içerisinde oluşan difüzyon prosesi, su bağlama kapasitesi ve biyofilmin hareketliliğine dayanır. Biyofilm matriksinde, su ve mikrobiyal hücrelerin yanında absorblanmış besinler ve metabolitler, hücre çözülme ürünleri ve hatta partikül maddesi içeren salgılanan polimerlerin bir kompleksidir. Bu yüzden bir biyofilm içerisinde peptidoglukan, lipitler, fosfolipitler ve diğer hücre bileşimleri, makromoleküllerin tüm sınıfı

gözlenebilir. Bir biyofilmin anyonik özelliği, uronik asitlerin varlığı yada ketal bağlanan pyruvatlar ile verilir (Singh vd., 2006).

Mikroorganizmalar, hayatta kalmaları ve büyümeleri için yüzeyde koloni oluştururlar. Biyofilmin mikrobiyel hücreler ve EPS ana iskeletinden oluştuğu, EPS'nin toplam organik karbonun %50–%90'nını barındırarak ana maddeyi (matriks) oluşturduğu kabul edilmiştir. EPS'nin kimyasal ve fiziksel olarak değişkenlik gösterse de öncelikli olarak polisakkaritten oluştuğu, polisakkaritlerden bir kısmının doğal, bir kısmının da anyonik yapıda olduğu ortaya konmuştur (Ebihara ve Bishop, 1999; Sutherland, 2001). Biyofilmin şematik gösterimi, Şekil 2.6'da ve biyofilmin yapısı, Çizelge 2.2'de verilmektedir:

Biyofilm oluşumu karmaşık bir süreçtir ve genellikle beş aşamalı tanımlanır: (Percival vd., 2000).

1. Mikroorganizmaların yüzeye tutunması
2. Yüzeye yakın organizmalar da meydana gelen fizyolojik değişim
3. Adhezyon
4. Yüzeyde, kolonilerden organizmaların ayrılması, mikrokoloni oluşumu ve biyofim gelişimi ve büyümesi
5. Kopma (yüzeyden ayrılma)



Şekil 2.6. Biyofilm oluşumunun şematik olarak gösterimi (Percival vd., 2000).

Çizelge 2.2. Genel biyofilm yapısı (Sutherland, 2001).

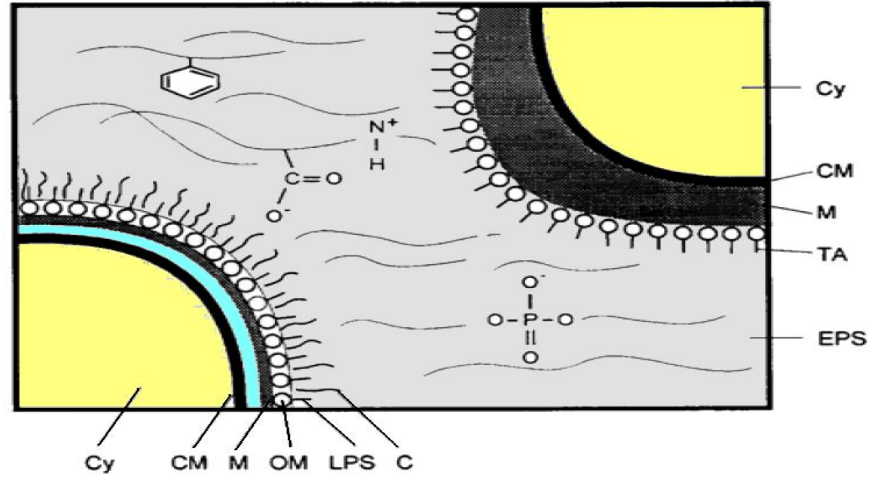
Bileşik	Makriksin yüzdesi (%)
Su	%95-98
Mikrobiyal Hücreler	%2-5 (birçok tür)
Polisakkaritler (homo- ve heteropolisakkaritler)	%1-2 (nötral ve polianyonik)
Proteinler (hücre dışı ve lizikle açığa çıkanlar)	<%1-2 (çoğu enzimdir)
DNA ve RNA	<%1-2
İyonlar	Değişken (bağlı ve serbest)

#### 2.2.1.1.1 Biyofilm Bileşimi

Biyofilm beş bölgeye ayrılabilir. Bunlar Şekil 2.7.'de gösterilmektedir (Flemming, 1995).

- 1) EPS (kapsül içerir)
  - Amino şeker ve protein içinde anyonik gruplar (örneğin:  $-NH^+$ -)
  - Üronik asitler ve proteinler içinde anyonik gruplar (örneğin:  $-COO^-$ ;  $-HPO_4^-$ )
  - Proteinlerden apolar gruplar (örneğin aromatik amino asitler)
  - Yüksek hidrojen bağlama potansiyelli gruplar (örneğin polisakkaritler)

- 2) Dış membran ve lipit membranlar ile gram negatif hücrelerin lipopolisakkaritleri ve gram pozitif hücrelerde lipoteichoic asitler
- 3) N-asetilglukozamin ve N-asetilmuramik asitin hücre duvarı içeriği katyonik ve anyonik alanlara tercihen
- 4) Sitoplazmik membran,
- 5) Sitoplazma, çevresindeki sudan ayrılan su fazı.



Şekil 2.7. Bakteri içeren bir biyofilmin kısımları, gr (-) (solda) ve gr (+) (sağda)  
 CY:Sitoplazma, CM:Sitoplazmik membran, M:Peptidoglukan, OM:Dış membran, LPS:Lipopolisakkarit, C:Kapsül, TA:Teikoik asit, EPS:Hücre dışı matriks (Flemming, 1995).

Bu bölümde, klorlu pestisitler, endosulfan, biyolojik parçalanma, biyolojik iyileştirme (bioremediation) ve biyofilm hakkında tanımlamalara ve genel bilgilere yer verilmiştir.

### 3. LİTERATÜR TARAMALARI

Günümüzde, kullanılan pek çok pestisit türü bulunmaktadır. Bu pestisitlerin en önemli grubu DDT ve türevi olan organoklorlu pestisit türleridir. Klorlu pestisitler, çevrede kalıcılığı ve toksisitesi yüksek kimyasallardır. Endosulfan kimyasalı ile ilgili pek çok çalışma yapılmıştır. Literatürde yer alan çalışmalar toksikolojik çalışmalar, çevredeki (su, toprak ve hava) davranışı, gıdalardaki kalıntı çalışmaları ve endosulfanın arıtım çalışmalarıdır. Literatürde endosulfanın biyobariyer olarak arıtımı ile ilgili çalışma bulunmamaktadır. Endosulfanın biyolojik parçalanmasına yönelik çalışmalar kronolojik olarak verilmektedir.

Katayama ve Matsumura (1993) yaptıkları çalışmada *Trichoderma harzianum* mantarının DDT, dieldrin, endosulfan, pentakloronitrobenzen ve pentaklorofenolu parçaladığı belirlemiştir.

Peterson ve Batley (1993) yapılan çalışmada su ortamında endosulfanın dağılımı ve parçalanma yolunu çalışmışlardır. Hidrolizin pamuk üreten bölgelerdeki alkali sularda, endosulfanın parçalanmasında etkin bir faktör olduğunu belirlemiştir.

Awasthi vd. (1997) yaptıkları çalışmada endosulfanın mikrobiyolojik parçalanması 15 gün içinde gözlemişlerdir. Her iki bileşeninde yaklaşık %50'si 7 gün içinde ve pestisitinin tümünün 15 gün içinde parçalandığını ve  $\beta$ -endosulfanın,  $\alpha$ -endosulfandan daha yavaş parçalandığını belirlemiştir. Endosulfan diol ve endosulfan sulfat parçalanma sırasında gözlememiştir. Bu çalışmada, karbon kaynağı olarak glikoz kullanılmış ve ilave karbon kaynağı eklenmesi parçalanmayı hızlandırmadığı sonucuna varılmıştır.

Awasthi vd. (1999) yaptıkları çalışmada mikokusum olarak oluşturulan ortamlarda endosulfan izomerlerinin biyolojik parçalanmasını çalışmışlardır.

Çalışmada kullanılan mikrokokuzumdan *Bacillus subtilis* MTCC 1427 izole edilmiştir. Çalışmada 30-45% biodegradasyonu oranı gerçekleşmiştir.

Guerin (1999) sulama suyu drenajı ve tarımsal atıklardan oluşan bir ortamda yaşayabilen anaerobik mikroorganizma türleri ile endosulfan izomerlerinin biyolojik parçalanmasını incelemişlerdir. Endosulfan, anaerobik koşullarda organik karbon kaynağı varlığında, metanojik koşullarda, endosulfan diol ve düşük toksisiteye sahip parçalanma ürünlerine dönüşmektedir. 30 gün içinde %85'in üzerinde parçalanma gözlemişlerdir.

Awasthi vd. (2000) yaptıkları çalışmada endosulfan ile kontamine topraklardan bakteri izole ederek endosulfan gideriminde kullanmışlardır. Endosulfanın parçalanmasının asidik pH'larda gerçekleşmediği, pH=8,5'de endosulfanın parçalanmasının arttığı ve yüksek pH değerlerinde endosulfan diol dönüşümü olduğunu göstermişlerdir.

Guha vd. (2000) yaptıkları çalışmada endosulfanın parçalanmasını iki farklı *Micrococcus sp* kültürü ile tek karbon ve enerji kaynağı olarak endosulfanı kullanarak elde etmişlerdir.

Sutherland vd. (2000) endosulfana maruz kalmış topraklardan elde ettikleri, karışık bakteri kültürü içeren ortamda endosulfanın parçalanmasını gerçekleştirmişlerdir. Zenginleştirme sırasında, tek kükürt kaynağı olarak endosulfan kullanılmıştır. İnsektisit parçalanması bakteriyel büyüme ile birlikte meydana gelmiştir. Bu çalışmada, bileşik hem okside hem de hidrolize olmuştur. Oksidasyon reaksiyonlarında, alfa izomer ve endosülfat oluşumu meydana gelmiştir. Hidrolizasyonda gaz kromatografisi -mass spektrofotometresi ve kimyasal derivizasyon sonuçlarında endosulfan mono aldehit olarak belirlemişlerdir.

Shetty vd. (2000) yaptıkları çalışmada *Mucor thermo-hyalospora* MTCC 1384 fungusunun, endosulfan moleküllerini parçaladığını belirlemişlerdir.

Ghadiri ve Rose (2001) yaptıkları çalışmada, pamuk çiftliklerinin killi topraklarında endosulfan izomerlerinin parçalanmasını, kalıcılığını ve birincil parçalanma ürünü olan endosulfan sülfat oluşumunu çalışmıştır. Toprak nemi, sıcaklık, gündüz ve gece sıcaklık farkları dalgalanma, su yüklemesi ve tekrarlı maruziyet gibi fiziksel farklılıklar karşısında endosulfanın parçalanması araştırmışlardır. İncelenen koşullar altında,  $\beta$ -endosulfanın parçalanmasını  $\alpha$ -endosulfanın parçalanmasından daha düşük düzeyde olduğunu belirlemişlerdir. Sonuçlar, iki endosulfan izomerinin parçalanma oranlarının toprağın su içeriği ve sıcaklığından önemli şekilde etkilendiğini göstermiştir.

Siddique vd. (2003) yaptıkları çalışmada, *Fusarium ventricosum* ve *Pandoraea Sp.* ile endosulfanın biyolojik parçalanması kinetiklerini çalışmışlardır. Alfa ve beta-endosulfan biyolojik parçalanması için k sabitlerini 8.19 ve 3.78 mg/L.gün olarak bulmuşlardır.

Lee vd. (2003) yaptıkları çalışmada, toprakta endosulfan ve metabolitlerinin dağılımında mavi-yeşil algin rolünü çalışmışlardır. İki alg türünün *Anabaena sp. PCC 7120*, başlıca üç temel biyotransformasyon bileşiğini (endosulfan diol, endosulfan hidroksieter ve endosulfan lakton) küçük miktarlarını ürettiğini ve düşük miktarda endosulfan sülfat bulmuşlardır. İkinci tür alg olan *Anabaena flos aquae* tarafından endosulfanın biyotransformasyonu sonucunda, çoğunlukla endosulfan sülfat olduğu, sistemde düşük miktarlarda endodiol bulunduğunu belirlemişlerdir.

Al-Hassan vd. (2004) yaptıkları çalışmada 4 farklı organik materyal kullanarak  $\alpha$  and  $\beta$  endosulfan izomerlerinin parçalanma oranını belirlemeye çalışmışlardır. Organik materyal olarak kümes hayvanları yemek ürünleri, kümes hayvanları gübresi, günlük gübre ve şehir katı atık kompostu uygun duruma getirip, kurutarak, (<1 mm) boyutunda kullanmışlardır. Endosulfanı ortama 20 mgkg<sup>-1</sup> oranında eklemişlerdir. Endosulfan ölçümü 1, 8, 15, 22,

29, 43 ve 57. günde gerçekleştirmişlerdir. Endosulfanı topraktan aseton ile ekstrakte etmişlerdir. Sonuçlar,  $\alpha$ -endosulfanın yarılanma ömrü, kümes hayvanları yemek artıklarında 15 gün ( $T_{1/2}$ ), diğer arıtlımlarda ise 22 günde ( $T_{1/2}$ ) göstermiştir.  $\beta$ -endosulfanın yarılanma ömrü ise kümes hayvanları yemek artıklarında 22 günde ( $T_{1/2}$ ), şehir katı atık kompostunda 57 günde ( $T_{1/2}$ ) gerçekleştiğini göstermişlerdir.

Shivaramaiah vd. (2005) tarafından yapılan bir çalışmada, Avustralya'da Namoi ve Hawkesbury ırmaklarından gelen sularda bulunan farklı pH (5, 7, ve 9) değerleri kullanılarak endosulfanın parçalanmasını araştırılmıştır. Çalışma sonucunda; endosulfanın pH=5'te dengeli olduğu, pH=7 ve pH=9'da kimyasal hidrolizi ile gideriminde artış görülmüştür. pH=8.3'de nehir suyunda, endosulfan sülfatın endosulfanın kaybolmasına paralel olarak arttığı, yüksek pH nedeni ile endosulfan diolünde olduğu görülmüştür.

Aslan ve Türkman (2006) yaptıkları çalışmada içme sularından nitrat ve endosulfan ( $\alpha+\beta$ ), fenitrothion ve trifluralin pestisitlerinin uzaklaştırılmasında biyolojik denitrifikasyon yöntemi uygulamışlardır. Çalışmada % 95'e ulaşan pestisit giderimine ulaşmışlardır. Aslan ve Türkman, (2004), farklı bir çalışmada, endosulfan gideriminin buğday samanı üzerine adsorpsiyonu ile % 21.3'ü ve biyolojik aktivite ile % 68.2'si gerçekleştiğini belirlemişlerdir.

Lee vd. (2006) yaptıkları çalışmada endosulfanın biyolojik parçalanması için, endosulfan ile kirlenmiş tarımsal topraklardan bakterileri izole etmişlerdir. İzole edilen bu bakteriler ile endosulfan ve endosulfan sülfatın parçalanması çalışılmış ve tek karbon kaynağı kullanılarak endosulfan veya endosulfan sülfatın varlığında *KS-2P* bakterisi izole etmişlerdir. *KS-2P* 16 rDNA sıralama analizi *Pseudomonas sp.* olarak tanımlamışlardır. Endosulfan (23.5 g/mL) yada endosulfan sülfat (21 g/mL) biyolojik parçalanma oranları sırayla 52% ve 71% olarak belirlemişlerdir.

Kumar ve Philip (2006 a) tarafından endosulfan ile kirlenmiş topraktan izole edilen üç bakteri kültürü ile endosulfan parçalanabilirliği araştırılmıştır. Kesikli deneylerde bakterilerin ortaklığında çalışmışlardır. Endosulfan ve onun metabolitleri (endosulfan sülfat, endosulfan eter, endosulfan lakton gibi) parçalanma potansiyelleri anaerobik koşullarda araştırmışlardır. Araştırma sonucunda, *Staphylococcus* sp. beta endosulfanı kullanmaya eğilimli iken, diğer iki *Bacillus* alfa endosulfanı kullanmaya tercih ettiği ve dekstroz gibi ek karbon kaynağı kullanılmasının endosulfanın parçalanmasını etkilediğini belirlemişlerdir.

Kumar ve Philip (2006b, 2006c) yaptıkları çalışmada endosulfan üreten endüstrilerin etrafından topladıkları kirletilmiş topraklardan *Staphylococcus* sp., *Bacillus circulans-I* ve *-II* içeren karışık kültür ortamı hazırlamışlardır. Karışık bakteri kültür ortamında, 50 mg/L başlangıç endosulfan konsantrasyonunda havalı ve fakültatif havasız koşullarda, kesikli deneylerle çalışarak endosulfanın parçalanmasını araştırmışlar. Çalışmalar 3 haftalık bir inkübasyon periyodu sonunda, aerobik ve fakültatif anaerobik koşullarda endosulfanın sırasıyla %71.58±0.2 ve %75.88±0.2 parçalandığını bulmuşlardır. Ek karbon kaynağı olarak dekstroz eklenmesi her iki koşulda endosulfanın parçalanmasını arttırdığını ve sistemin pH'sının endosulfanın parçalanmasını önemli derecede etkilediğini belirlemişlerdir. Alfa endosulfanın parçalanmasının beta endosulfan ile eş düzeyde olduğu sonucunu elde etmişlerdir. Ayrıca minyatür laboratuvar ölçekli reaktörde, toprakta endosulfanın parçalanmasını çalışmışlardır. Biyolojik parçalanma deneylerinde killi toprak, kırmızı toprak, kumlu toprak, ve kompostlaşmış toprak kullanmışlardır. Endosulfanın minyatür toprak reaktörlerde parçalanması, aerobik ve anaerobik koşullarda deneysel çalışmalarını gerçekleştirmişlerdir. Çalışmalar sonucunda; 4 hafta sonra kırmızı topraklı reaktörde %95.48±0.17 oranında endosulfanın parçalandığı, %38,1±1 oranında neme sahip kompostlu toprak I ve %45 ±1 oranında neme sahip kompostlu toprak II de sırası ile %96,03± 0,23 ve %94,84±0,19 oranında parçalandığını belirlemişlerdir.

Shivaramaiah ve Kennedy (2006) endosulfan metabolitlerini pamuk tarımı yapılan tarla toprağından izole etmiş ve endosulfandan, endosulfan sulfat oluştuğunu göstermişlerdir. Bu çalışmada, bakterilerin 3 gün içinde bileşiminin %50 sini parçaladığı belirlenmiştir. GC'de yapılan analizler endosulfan sülfatın zaman içinde oluşan ürünlerini ve metabolitleri dışındaki ürünleri inkübasyon süresince biçimlendiğini göstermiştir.

Hussain vd. (2007) endosulfanın biyolojik parçalanmasını üç farklı mantar şuşu kullanarak (*C. stromatoides*, *A. terricola*, ve *A. Terreus*) farklı pH değerlerinde çalışmışlardır. Çalışma sonucunda, üç farklı mantar türü içinde maksimum biyolojik parçalanma alfa ve beta endosulfan için pH=6'da olduğunu gözlemişlerdir. Sıcaklığın, endosulfanın parçalanması üzerine etkisini (20-45<sup>0</sup>C) araştırmışlardır. Endosulfanın iki izomerinin (25-35<sup>0</sup>C) inkübasyon sıcaklıklarında biyolojik olarak parçalandığını belirlemişlerdir. Maksimum biyolojik parçalanma 30<sup>0</sup>C'de gözlemişlerdir. Endosulfanın iki izomerinin de biyolojik parçalanması 45<sup>0</sup>C'de % 36 iken, 30<sup>0</sup>C'de % 90'dan daha fazladır. Farklı sıcaklıklarda endosulfanın iki izomerinin parçalanması arasında çok önemli bir farklılık yoktur. Üç mantar türü farklı sıcaklıklarda benzer durum göstermiştir. Yüksek inkübasyon sıcaklıklarında, daha çok abiyotik parçalanma meydana geldiğini gözlemişlerdir. Çalışmada, ortam pH'sının biyolojik parçalanma ile düştüğü rapor edilmiştir.

Kumar vd. (2007) pestisit ile kirlenmiş topraklardan elde ettikleri karışık bakteri kültürünü kullanarak kesikli reaktörlerde endosulfanın biyolojik olarak parçalandığını gözlemişlerdir. Karışık mikroorganizma kültürü, iki haftalık inkübasyon döneminden sonra  $\alpha$  ve  $\beta$  endosulfanı sırası ile %73 ve %81 oranında parçalayabilmiştir. Ayrıca, yapılan toksisite çalışmalarında karışık mikroorganizma kültürünün endosulfanın toksisitesini önemli oranda azaltmakta olduğunu belirlemişlerdir. Çalışılan iki bakteri türünün *Stenotrophomonas maltophilia* ve *Rhodococcus erythropolis* olduğu 16S rRNA tekniğı ile görülmüştür.

Kumar vd. (2008a) endosulfan ile kontamine olmuş topraktan elde edilen *Ochrobacterum* sp, *Burkholderia* sp, *Pseudomonas alcaligenes*, *Pseudomonas* sp. ve *Arthrobacter* sp. türlerinin 7 gün sonunda  $\alpha$ -endosulfanı %57-90 ve  $\beta$ -endosulfanı %74-94 oranında parçaladığını rapor etmişlerdir.

Kumar vd. (2008b) karışık bakteri kültürü ile endosulfanı tek karbon kaynağı olarak kullanarak, endosulfanın biyolojik parçalanma sürecini araştırmışlardır. Karışık bakteri türünün 20 günde alfa endosulfanın %72'sini, beta endosulfanın ise %87'sini parçaladığını belirlemişlerdir.

Arshad vd. (2008) *Pseudomonas aeruginosa* türü ile alfa ve beta endosulfanın parçalanmasını araştırmışlardır. Endosulfanın iki izomerinin parçalanması pH=8 ve 30<sup>0</sup>C sıcaklıkta başarmışlardır. Bu koşullar altında, alfa ve beta endosulfanın %85'den fazlası giderilmekte olduğunu belirlemişlerdir.

Goswami vd. (2009) endosulfanın biyolojik parçalanması için mantar kültürü ile çalışılmıştır. *Aspergillus sydoni* türü 18 gün sonunda  $\alpha$ -endosulfanı %95,  $\beta$ -endosulfanı ise %97 oranında parçaladığını belirlemişlerdir.

Goswami ve Singh (2009) *Bordetella* sp. B9 türü 18 gün sonunda,  $\alpha$ -endosulfanı % 80 ve  $\beta$ -endosulfanı % 86 oranında parçaladığını bulmuşlardır.

Li vd. (2009) tarafından yapılan çalışmada, *Achromobacter xylosoxidans* CS5 türü ile endosulfan parçalanmasını çalışmışlardır. Bu bakteriyi topraktan izole etmişlerdir.

Singh ve Singh (2010) zenginleştirme tekniği ile topraktan endosulfan parçalayan bakteri türünü izole etmiş ve tanımlamıştır. İzole edilen

*Achromobacter xylosoxidans* türü alfa endosulfanı %94,12, beta endosulfanı ise %84,52 oranında parçalamıştır.

Bajaj vd. (2010) *Pseudomonas* türlerinin endosulfan ile kirlenmiş toprakların iyileştirilmesinde kullanılabileceğini rapor etmişlerdir. Bu türün  $\alpha$ -endosulfanı ve endosulfan sülfatı parçalarken  $\beta$ -endosulfanı parçalayamadığını belirtmişlerdir.

Banasiak vd. (2011) tarafından elektrodializ membran ile endosulfan sorpsiyonunu araştırmışlardır. Elektrodializ membranın endosulfanı yüksek oranda adsorbe ettiğini gözlemişlerdir.

Verma vd. (2011) tarafından Hindistan'da toprak solucanının (*Metaphire posthuma*) barsağından izole edilen *Rhodococcus* MTCC 6716 türü endosulfanın biyolojik parçalanmasında kullanmışlar. Çalışmada maksimum büyüme için optimum koşullar; endosulfanın parçalanması, regrasyon denklemi, yarılanma ömrü ve korelasyon katsayısı belirlemişlerdir. Bakterinin maksimum büyümesi sıvı besiyerinde pH=7, 30°C ve 0,085 M sodyum klorür konsantrasyonunda gözlemişlerdir. Endosulfan *Rhodococcus* tarafından toksik metabolit üretmeden 15 günde korelasyon katsayısı (-0,728) ve yarılanma ömrü 5,99 gün ile %97,23 oranında parçaladığını belirlemişlerdir.

Yukarıda özetlenen bilimsel yayınlar, endosulfanın sınırlı sayıda mikroorganizma türü (bakteri mantar) tarafından tek kültür veya çoklu popülasyon olarak parçalanabildiğini, yüksek pH'nın endosulfanın parçalanmasında olumlu etkisi olduğu, mikroorganizma türlerinin endosulfan izomerleri arasında tercih yaptığını ortaya koymaktadır. Karışık kültürler (mikrobiyal konsorsiyumlar) endosulfan gideriminde daha etkili olmaktadır. Toprak ve yer altı suyunda rastlanan pH değerlerinde (pH $\cong$ 7) arıtım verimi görece düşüktür. Endosulfanın biyolojik parçalanma kinetik parametrelerinin belirlenmesi üzerine yapılmış çalışma sayısı birkaç tane ile sınırlı kalmıştır.

Sonraki bölümde, çalışmanın hedefi ve deneysel çalışmalar hakkında bilgiler yer almaktadır.

#### 4. ÇALIŞMANIN AMACI ve HEDEFİ

Çalışmanın amacı, doğal koşullarda (nötral pH) endosulfanı parçalayabilen mikroorganizmalar kullanılarak biyobariyer oluşturmaktır.

Çalışmanın hedefleri aşağıdaki verilmiştir.

1. Endosulfanı parçalayabilen mikroorganizma türünün kültür zenginleştirme tekniği ile topraktan elde edilmesi
2. Mikroorganizma kültürünün uygun pH ve şartlarda endosulfanı parçalanabilirliğinin belirlenmesi,
3. Ek karbon kaynağı kullanılmasının endosulfanın parçalanması üzerine etkisinin belirlenmesi,
4. Bakteri kültürünün gözenekli yüzey üzerinde biyofilm oluşturma potansiyelinin belirlenmesi ve biyobariyer elde edilerek yerinde iyileştirme potansiyelinin değerlendirilmesi
5. Elde edilen mikroorganizma kültürlerinin biyobariyer oluşturma sürecinin belirlenmesi ve endosulfanın kolon reaktörde arıtılma veriminin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışma, yukarıda belirtilen hedefler doğrultusunda yapılmıştır. Çalışmaların yapılmasına karar verilirken, endosulfanı parçalayan mikroorganizma kültürünün endosulfan ile kirlenmiş topraktan elde edilmesi hedeflenmemiştir. Endosulfan parçalanma koşulları belirlenirken, literatürde yapılan çalışmalar değerlendirilerek, mikroorganizmanın kolay parçaladığı glikoz ek karbon kaynağı olarak belirlenmiş, başka karbon kaynağı seçilmemiştir. pH çalışmaları için iki değer belirlenmiştir. pH değerlerinin belirlenmesinde literatür çalışmaları esas alınarak asidik ve alkali pH değeri seçilmiştir. Biyobariyeri oluşturmak için dolgu maddesi olarak zeolit seçilmiştir. Mikroorganizma destek yüzeyi olarak zeolit kullanılmasının nedeni, zeolitinin elektronegatif yüzey yoğunluğu ve hammadde olarak düşük maliyetli olmasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca yapılan literatür taraması zeolitinin

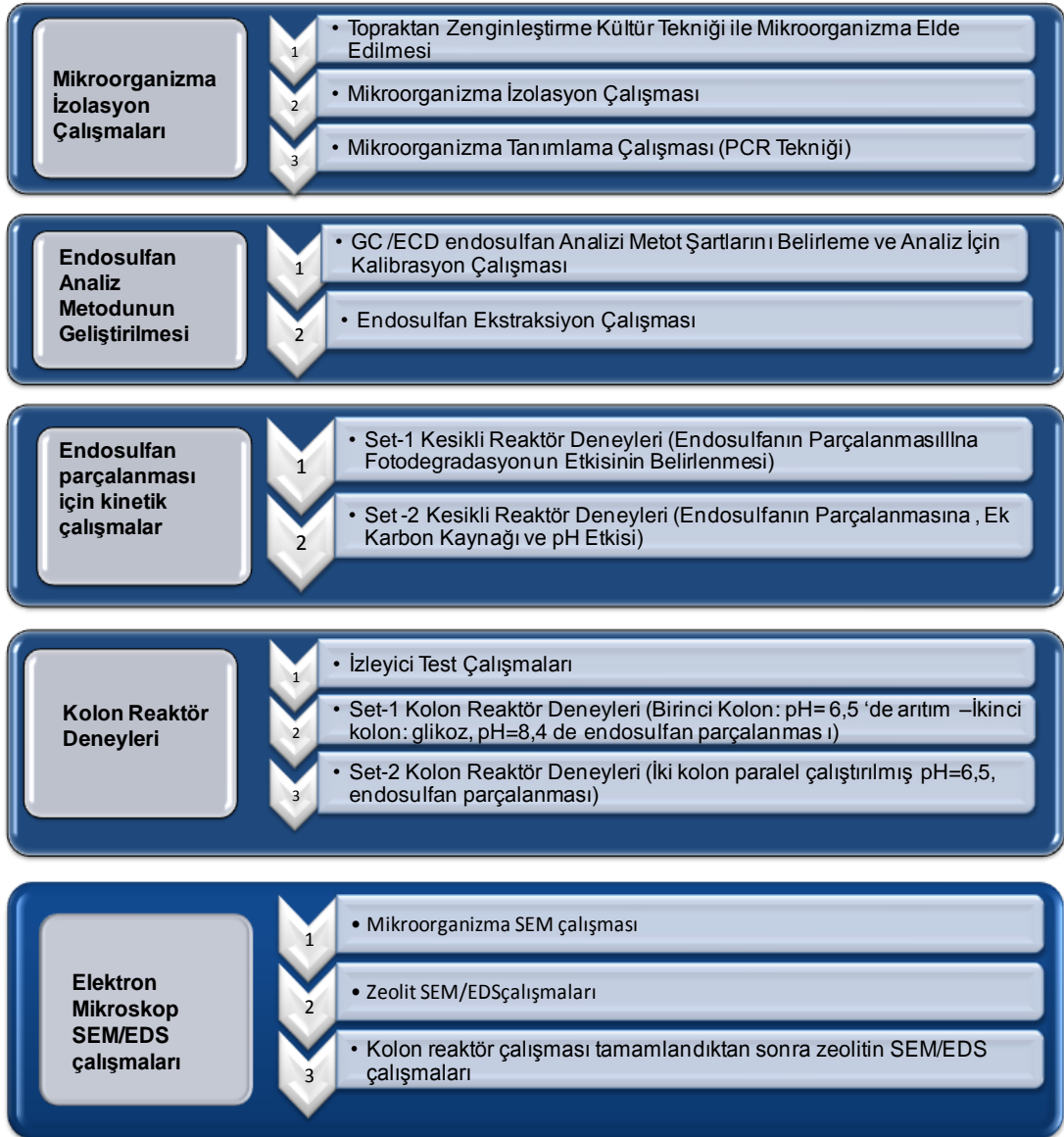
daha önce reaktif bariyer olarak kullanılmadığını göstermiştir. Çalışmanın ana hedefi biyobariyer oluşturarak endosulfan giderimini gerçekleştirmek olduğu için modelleme, çalışma kapsamında ana hedef olarak ele alınmamıştır.

Literatür tarama çalışmaları biyobariyer konusunda yayınlanmış eser sayısının 2010 yılı itibari ile 110 adetten daha az olduğu, bu eserler arasında hakemli makale sayısının 70 adetten daha az olduğunu göstermektedir. Bütün bu çalışmalar içinde klorlu bileşiklere özel çalışma sayısı 15 adettir. SCI'da endosulfan giderimine yönelik hazırlanmış makale sayısı 18 adettir. Konu ile ilgili yayınlanan makalelerin azlığı konunun özgünlüğünü vurgulamaktadır.

## 5. DENEYSEL ÇALIŞMA YÖNTEMLERİ, MATERYAL VE METOTLAR

### 5.1 Deneysel Yöntemler

Biyolojik olarak endosulfanı parçalayabilen mikroorganizmaların belirlenmesi ve bu mikroorganizmalardan biyobariyer oluşturulması sürecinde kullanılan yöntemler ve kimyasallar aşağıda verilmektedir. Tez çalışmaları sırasında kullanılan metodolojiyi çalışma kronolojisine uygun olarak, Şekil 5.1.'de göstermektedir. Şekil 5.1.'de belirtilen yöntemler hakkındaki detaylı bilgi bu bölümün alt başlıklarında açıklanmaktadır.



Şekil 5.1. Deneysel Çalışmalarında Uygulanan Yöntemler

### 5.1.1 Kullanılan kimyasallar

Deneyisel çalışmalar sırasında yüksek saflıkta kimyasallar kullanılmıştır. Kimyasalların formülasyonları ve üretici firmaları listesi, Çizelge 5.1.'de verilmektedir. Deneyler sırasında, Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Üretim Tesislerinden alınan ultra safsu kullanılmıştır.

Çizelge 5.1. Deneyisel çalışmalarda kullanılan kimyasal maddeler

Kimyasal Madde	Formül	Marka
Endosulfan(%99,5 saf)	$C_9H_6O_6Cl_3O$	Bayer Crop Science
Dipotasyum fosfat	$K_2HPO_4$	Merck
Mono potasyum fosfat	$KH_2PO_4$	Merck
Disodyum hidrojen fosfat	$Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$	Merck
Amonyum klorür	$NH_4Cl$	Merck
Kalsiyum klorür	$CaCl_2$	Merck
Magnezyum klorür	$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	Merck
Sodyum klorür	$NaCl$	Merck
Magnezyum klorür	$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	Merck
Kobalt klorür	$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	Merck
Mangan klorür	$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	Merck
Demir klorür	$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	Merck
Çinko klorür	$ZnCl_2 \cdot 7H_2O$	Merck
Bakır klorür	$CuCl_2$	Merck
Aseton	$C_3H_6O$	Merck
n-Hexan	$C_6H_{14}$	Merck
Etanol	$C_2H_6O$	Jet Baker
Glikoz	$C_6H_{12}O_6$	Merck

### 5.1.2 Mikroorganizmaların Zenginleştirilmesi ve İzolasyonu

Endosulfan, bitkilerin zararlı organizmalardan korunması için toprağa uygulanan bir insektisit türüdür. Bu nedenle, endosulfanı parçalayabilen mikroorganizma kültürü elde etmek için topraktan mikroorganizma kültürünün kültür zenginleştirme yöntemi ile elde edilmesi amaçlanmıştır. Mikroorganizmalar tabiatta saf halde bulunmadığından dolayı, çalışmalarda özelliklerinin incelenebilmesi ve tanımlama yapılabilmesi saf kültür halinde

çalışılması gerekmektedir. Ancak mikroorganizmaların özelliklerinin incelenebilmesi ve tanımlamalarının yapılabilmesi için saf kültür halinde diğer organizmalardan ayrı olarak elde edilmesi gerekmektedir. Mikroorganizmaların saf halde edilebilmesi içinde izolasyon işlemi yapılır (Benson, 2002).

Çalışma kapsamında, endosulfanı parçalayabilen bakteri kültürü topraktan kültür zenginleştirme yöntemi elde edilmiştir. Araştırma için gerekli türlerin az sayıda oldukları düşünüldüğünde, izolasyon öncesi zenginleştirme tekniğinin kullanımı, bu organizmaların izolasyon şansını büyük oranda arttırmıştır.

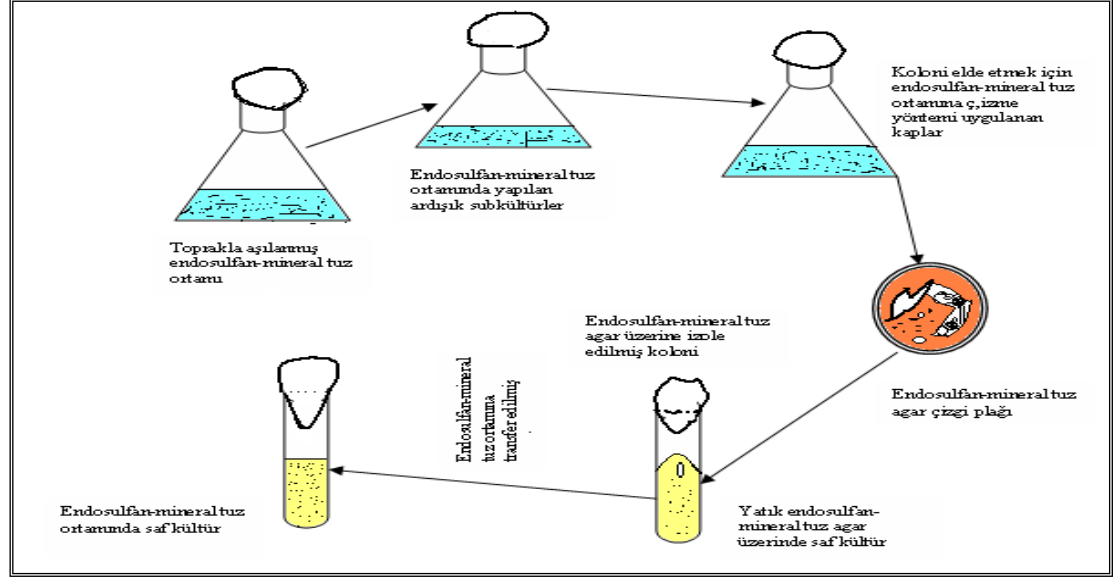
Bu amaçla aşağıda verilen çalışma prosedürü uygulanmıştır (Benson, 2002):

1. 100 mL saf suya endosulfan çözünürlüğünü arttırmak için 1 mL aseton ve 1g endosulfan eklenir.
2. Mineral besi ortamı hazırlanır. 250 mL erlenlere 50 mL konur ve ağzı tamponla kapatılarak 121<sup>0</sup>C de 20 dakika 1,06 bar basınçta sterilize edilir.
3. Sterilize edilen erlenler oda sıcaklığına geldikten sonra her bir kabın içerisine her biri farklı bölgelerden getirilen 1 g toprak ve 0,1 g/L endosulfan eklenir.
4. Sürekli karıştırıcıda oda sıcaklığında çalkalanır.
5. Bakteri kültürü elde edilen solüsyondan 1mL alınarak tekrardan endosulfan- mineral çözelti içerisine aktarılır.
6. Endosulfanlı besi agar ortamı hazırlanır. Agar ortamı sterilize edildikten sonra oda sıcaklığına gelene kadar beklenir. İçerisine 0,1 g/L endosulfan eklenir. Steril petri kaplarına ve yatık agara aseptik şartlarda dökülür.
7. Bakteri kültüründen steril olarak 1 mL alınarak endosulfan-mineral agara ekilir.
8. Plaklar 25<sup>0</sup>C'de inkübe edilir.

9. İnkübasyon sonucunda herhangi bir koloninin gelişip gelişmediği kontrol edilir.

10. Temsili koloniler saklanmak üzere yatık agar tüplerine transfer edilir

Kültür zenginleştirme tekniği şematik olarak, Şekil 5.2.'de gösterilmektedir.



Şekil 5.2. Kültür zenginleştirme tekniği deney prosedürü gösterimi.

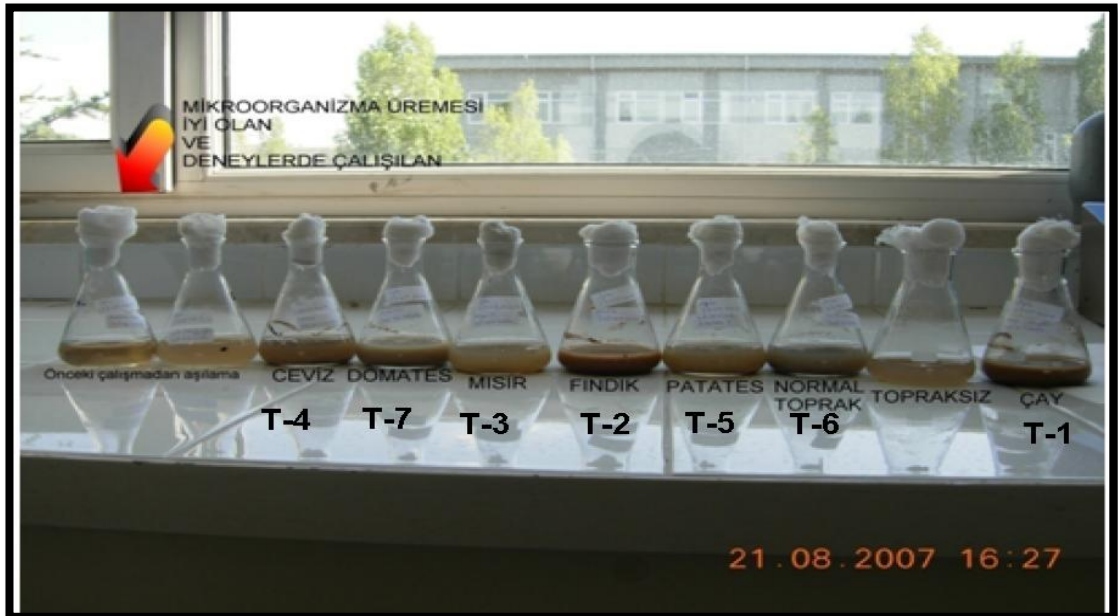
Yukarıda verilen bilgiler çerçevesinde, endosulfanı parçalayan bakteri elde etmek için farklı alanlardan toprak getirilmiştir. Bilindiği kadarı ile çalışmada kullanılan toprak türlerinde endosulfan uygulanmamıştır (Kişisel görüşmeler). Toprak örnekleri alınırken 10 cm üst örtü tabakası kazılarak toprak alınmıştır. Toprakların getirildiği alanlar Şekil 5.3.'de, deney çalışması fotoğrafı, Şekil 5.4.'de gösterilmekte ve aşağıda belirtilmektedir;

- 1) T-1 : Artvin Hopa ilçesinden çay tarımı yapılan tarla
- 2) T-2 : Artvin Hopa ilçesinde fındık tarımı yapılan tarla
- 3) T-3 : Artvin Hopa ilçesinde mısır tarımı yapılan tarla
- 4) T-4: Artvin Şavşat ilçesinden ceviz ağaçları bulunan arazi
- 5) T-5 Artvin Şavşat ilçesinde patates tarımı yapılan tarla
- 6) T-6: Ardahan ilinden getirilen üzerinde hiçbir tarımın yapılmadığı toprak

7) T-7 : Mersin ilinden domates tarımı yapılan tarla.



Şekil 5.3. Kültür zenginleştirme tekniği için toprakların alındığı yerler.



Şekil 5.4. Çalışma sırasında hazırlanan çalışma materyallerinin fotoğrafik görünümü.

Bütün deney çalışmalarında, mineral besi çözeltisi kullanılmıştır. Mikrobiyal kültürün zenginleştirilmesinde kullanılan besi ortamı Çizelge 5.2. ve Çizelge 5.3.'de verilmiştir.

Çizelge 5.2 Çalışmada kullanılan besi ortamı içeriği ve kimyasallar (Atlas, 2005).

Kimyasal Madde	Konsantrasyon (mg/L)
$K_2HPO_4$	25,50
$KH_2PO_4$	65,25
$Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$	100
$NH_4Cl$	195,10
$CaCl_2$	82,50
$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	67,5
$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	0,75
Wolfe's mineral solüsyonu	10 mL/L

Çizelge 5.3. Wolfe's mineral solüsyon kompozisyonu (Atlas,2005).

Kimyasal Madde	Konsantrasyon (g/L)
NaCl	1
$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	3
$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	0,1
$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	0,05
$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	0,1
$ZnCl_2 \cdot 7H_2O$	0,1
$CuCl_2$	0,01

Besi ortamı belirlendikten sonra, topraktan endosulfanı parçalayabilen bakteri türü elde etme çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalar, takip eden başlık altında anlatılmaktadır.

### 5.1.3 Sterilizasyon Protokolleri

Sterilizasyon, çalışma ortamında veya kullanılan maddeler içinde bulunan istenmeyen olası canlıları yok etmek için kullanılmıştır. Metotta dezenfekte edici kimyasal maddeler ve materyaller kullanılmaktadır. Deneysel çalışmalar sırasında, sterilize edilecek madde ve malzemeye göre ve sterilizasyonda kullanılacak alet ve metota göre farklı tipte sterilizasyon işlemi uygulanmıştır (Benson, 2002).

1. Kuru Sterilizasyon (Yakma veya alevden geçirme ile sterilizasyon):  
Öze ve ok uçlu iğne gibi metalik aletler alevde yakılarak sterilize edilmiştir. Bunun için öze ve iğne, bunzen bek alevine dik vaziyette tutulur ve kor oluşuncaya kadar yakılmıştır. Şırınga iğnesi, pens, cam eşyanın ağız kısmı, cam çubuk, lam ve lamel gibi malzemeler ise birkaç kez alevden geçirilerek sterilize edilmiştir.
2. Buharlı sterilizasyon:  
Tüp, petri kutusu, pipet, erlenmayer, beher, mezür, balon joje gibi cam malzemeler otoklavda (Nüve OT032 marka) 121<sup>0</sup>C'de 1 atm basınçta 30 dakika sterilize edilmiştir.
3. Soğuk Sterilizasyon:  
Isıya hassas solüsyonlar 0,22 µm membran filtreler kullanılarak sterilize edilmiştir.

#### **5.1.4 Bakteri Kültürlerinin Tanımlanması (Polimeraz Zincir Reaksiyonu Metodu)**

Bakteri tanımlamada, basit ve yaygın olarak morfolojik analizler ve biyokimyasal testler uygulanmaktadır. Bunlar; Saf Kültür İzolasyonu, Gram Boyama, Katalaz Testi, İndol Testi, Metil red (MR) Testi, Voges Proskauer Testi, Sitrat Testi, Hareketlilik Testi, Yumuşak Dik Agarlı Besiyerinde Hareketlilik Testi, Yaş Preparasyon Tekniği, Flagella Boyama, Yöntemi İle Mikroskobik Hareketlilik Testi, Karbohidrat Fermantasyon Testi, Hemoliz Testi Lisin Dekarboksilaz Testi, ONPG ( $\beta$ -Galaktozidaz) Testi, Üre Testi'dir (Benson, 2002). Fakat bu yöntemler uzun zaman aldığından dolayı bakterilerden insana kadar her tip organizmanın genetik tiplendirilmesinde en hızlı, ekonomik ve güvenilir uygulamalar Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)'na dayalı yöntemler kullanılmaktadır. PCR, klasik tanımlama yöntemlerin yanısıra bakterilerin moleküler düzeyde tanımlanması amacıyla yaygın olarak başvurulan bir teknik haline gelmiştir (Stefan ve Atlas, 2001).

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), dizisi bilinen bir DNA bölgesinin in vitro olarak çoğaltılmasını sağlayan ve DNA molekülünün milyonlarca, hatta milyarlarca kopyasını kısa zamanda yapmaya olanak sağlayan bir tekniktir. İlk olarak Kary Mullis bu tekniğe bugünkü ismini vermiş ve uygulamaya koymuştur ve bu fikri ile 1993 yılında Nobel Kimya Ödülü'nü kazanmıştır. Bu teknikte tek bir gen bölgesi çoğaltılabileceği gibi, genin sadece bir parçası da çoğaltılabilir. PCR ile genellikle 10 kilobaz (kb) uzunluğa kadar DNA bölgeleri çoğaltılabilmektedir, ancak bazı metotlarla bu uzunluk 40 kb'a kadar ulaşabilmektedir (Birben, 2006).

Çalışmada, kültür zenginleştirme tekniği kullanılarak topraktan izole edilen bakteri türlerinin tanımlaması PCR tekniği kullanılarak yapılmıştır. Bakteri türü tanımlama çalışmaları için 16S rRNA Geni DNA dizi analizi yapılmıştır. Bu çalışmalar Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü'nde hizmet alımı olarak yaptırılmıştır. Aşağıda yapılan çalışmaların deney prosedürü verilmektedir.

#### **5.1.4.1 DNA izolasyonu**

24 saatlik aktif kültürlerden "Promega Wizard Genomic DNA Purification Kit" ile DNA izolasyonu yapılmıştır. Kitin protokolüne uygun olarak izolatların DNA'ları izole edilmiştir.

#### **5.1.4.2 Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)**

16S rDNA dizilerinin çoğaltıldığı polimeraz zincir reaksiyonu, bakteri spesifik 27F (5'AGA-GTT-TGA-TCC-TGG-CTC-AG-3') ileri (forward) primer ve 1492R (5'GGT-TAC-CTT-GTT-ACG-ACT-T-3') ters (reverse) primer kullanılarak gerçekleştirilmiştir. 50µl reaksiyon hacmi için; 5µl 10X Taq buffer ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 1µl 10mM dNTP karışımı, 1µl 20pmol forward ve 1µl 20pmol reverse primerler, 0.3µl 250U/l Taq DNA Polimeraz, 2µl 25mM MgCl<sub>2</sub> ve 1.5µl 200ng DNA'dan oluşan reaksiyon karışımı distile su ile hacmi 50µl'ye tamamlanmıştır. 95°C'de 4 dak. başlangıç denatürasyon uyguladıktan sonra

35 tekrar olmak üzere 95°C'de 1 dak. denatürasyon, 58°C'de 1 dak. primer bağlanması ve 72°C'de 3 dak. zincir uzama evresi uygulandıktan sonra son zincir sonlanma aşaması için 72°C'de 7 dakika uygulanarak reaksiyon gerçekleştirilmiştir. Elde edilen PCR ürünleri kalıp DNA molekülü olarak kullanılmıştır.

#### **5.1.4.3 PCR ürünlerinin saflaştırılması**

DNA dizi analizinden önce, elde edilen PCR reaksiyonu ürünleri, primerler ve dNTP'ler gibi reaksiyon artıklarının ortamdaki uzaklaştırılması için "Promega Wizard SV Gel and PCR Clean Up System" PCR ürünü saflaştırma kiti ile saflaştırılmıştır. Saflaştırılan PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde 1X TBE (Tris-Borik Asit-EDTA) tamponu ile elektroforez işlemine tabi tutulmuştur.

#### **5.1.4.4 DNA Dizi Analizi**

##### **5.1.4.4.1 Zincir Sonlanma Reaksiyonu (Sekans PCR Reaksiyonu)**

Floresan işaretli dideoksinükleotidlerin kullanılmasıyla gerçekleştirilen zincir sonlanma reaksiyonu Beckman Coulter tarafından verilen protokole uygun olarak gerçekleştirilmiştir. 'Dye Terminator Cycle Sequencing (DTCS) Quick Start Kit' içerisinde bulunan master mix zincir sonlanma reaksiyonu için gerekli olan ddNTP, dNTP, DNA Polimeraz ve tampon ortamını ihtiva etmektedir. Bir reaksiyon için 4-6µl saflaştırılmış PCR ürünü, 1.6 pmol ileri veya geri primerden 2µl, "DTCS Quick Start master mix"ten 8µl, 4-6µl su eklenerek son hacmi 20µl olan zincir sonlanma reaksiyonu kurulmuştur. Reaksiyon karışımına 96°C'de 20 sn, 50-55°C'de 20 sn ve 60°C'de 4 dk olan termal döngü programı uygulanmıştır.

##### **5.1.4.4.2 Zincir Sonlanma Reaksiyonu Ürünlerinin Purifikasyonu**

Elde edilen zincir sonlanma reaksiyonu ürünlerinden reaksiyona katılmamış olan ddNTP, dNTP ve primerlerin ortamdaki uzaklaştırılması için Beckman Coulter tarafından açıklanan 'Etanol Presipitasyonu' protokolü uygulanmıştır. Bu protokole göre; zincir sonlanma reaksiyonu ürünü steril 1.5ml tüplere

alınır, 2µl 100mM Na-EDTA (pH 8.0), 2µl 3M Sodyum Asetat (pH 5.2) ve "DTCS Quick Start" kit tarafından sağlanan 20mg/ml glikojenden oluşan STOP solüsyonundan 5µl eklenip karıştırılmış, 60µl %95'lik etanol eklenip, 15 dk 14000 rpm'de (4°C) santrifüj edilmiştir. Süpernatant döküldükten sonra 200µl %70'lik etanol ile 2 dk 14000 rpm'de (4°C) pellet yıkanır ve supernatant mikropipet yardımıyla uzaklaştırılarak bu aşama 2 kez tekrar edilmiştir. Tüpler ters çevrilerek, DNA peleti oda koşulunda kurumaya bırakılmıştır. DTCS Quick Start içerisinde gelen formamidli karışımdan 40µl eklenip hafifçe vortekslenerek peletin çözünmesi sağlanmıştır. Beckman Coulter CEQ 8000 kapiler elektroforez sistemine uygun olan plakelere örnekler yüklenerek üzerlerine birer damla mineral yağ damlatılıp, kapiler elektroforez sistemine uygun olan tampon ortamı ile birlikte sisteme yüklenerek DNA dizi analizi gerçekleştirilmiştir.

#### **5.1.5 Endosulfan Ekstraksiyon Protokolü**

Endosulfan analizleri öncesi ekstraksiyon işlemi sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi (EPA 508.1) kullanılarak yapılmıştır. Ekstraksiyon işleminde ağız vidalı-teflon kapaklı 15 mL'lik ekstraksiyon tüpleri kullanılmıştır. Reaktörden 3 mL örnek bu tüplere alınmış, üzerine 3 mL hekzan ilave edilmiş ve ağız kapatılarak 5 dakika hızlı karıştırmadan sonra fazların ayrılması için 1 dakika beklemeye bırakılmıştır. Fazlar ayrıldıktan sonra üstte kalan hekzan fazından 1 mL alınarak ölçüm yapılmıştır. Deneylerde ekstraksiyon verimliliği alfa endosulfan için %75,5, beta endosulfan için % 100 toplam geri kazanım %98 olarak hesaplanmıştır.

#### **5.1.6 Endosulfan Analizleri**

Endosulfan ve izomerleri ( $\alpha$ - ve  $\beta$ -endosulfan) Agilent Technologies 6890N Network gaz kromatografisi elektron yakalama detektörü (GC/ECD) ile analiz edilmiştir. Kolon seçiminde, literatürde yapılan çalışmalar dikkate alınmıştır. Literatürde, HP-5 kolon kullanılarak endosulfan analizleri yapılmıştır (Saiyed vd, 2003; Sakai, 2003; Broomhall, 2004). Çalışmada; analiz için 30 m x 0.32 mm x 0.25 µm film kalınlığında HP-5 kapilar kolon, 2 µL enjeksiyon

hacminde, splitless olarak çalışılmıştır. Yüksek kalitede helyum (He) taşıyıcı gaz, süpürücü (make-up) gaz olarak azot (N<sub>2</sub>) kullanıldı. Dedektör sıcaklığı 300<sup>0</sup>C ve enjektör sıcaklığı 250<sup>0</sup>C 'de çalıştırıldı. Başlangıç kolon sıcaklığı 60<sup>0</sup>C de 0,5 dakika, 20<sup>0</sup>C/dakika sıcaklık artışıyla 12 dakika tutularak 280<sup>0</sup>C'ye çıkarıldı. GC-ECD de alfa ve beta endosulfan analizi için ayrı kalibrasyon grafiği elde edilmiş ve her ikisi içinde kalibrasyon R<sup>2</sup>=0,99 değerinde çalışılmıştır.

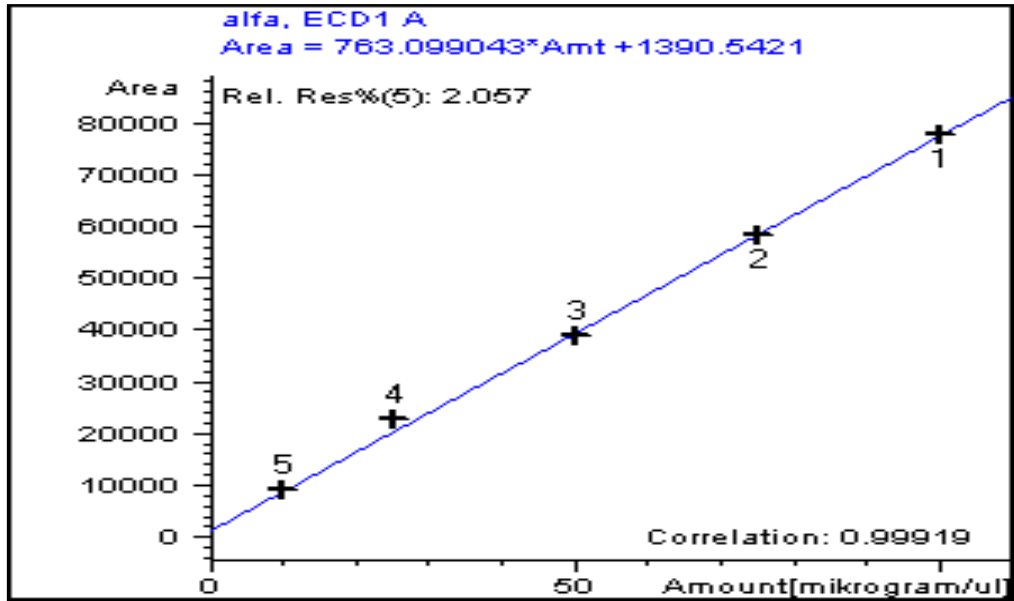
### 5.1.7 Kalibrasyon

#### 5.1.7.1 Endosulfan stok çözeltisinin hazırlanışı:

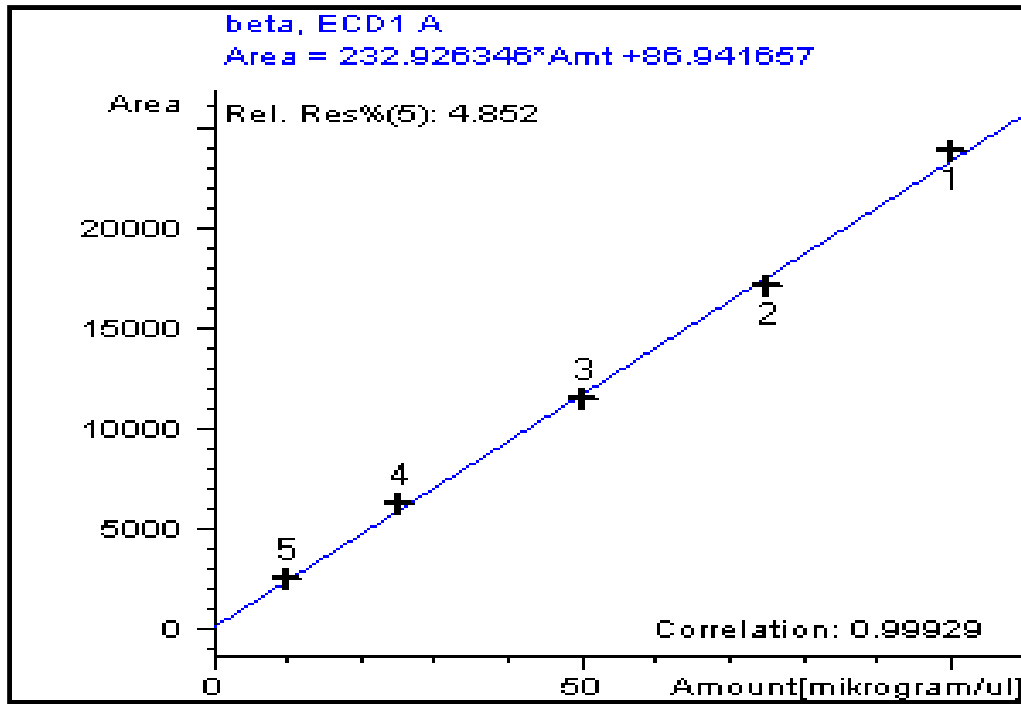
Kalibrasyon için hazırlanan 0,1 g/L'lik endosulfan stok çözeltisi kullanılmıştır. Bu amaçla 1 mL aseton içerisinde 0,01 g endosulfan eklenerek endosulfanın aseton içerisinde çözünmesi sağlanmıştır. Daha sonra üzerine saf su eklenerek 100 mL'ye tamamlanmıştır. Ve 0,1 g/L lik endosulfan stok çözeltisi hazırlanmıştır.

#### 5.1.7.1.1 Kalibrasyon setinin hazırlanışı:

Kalibrasyon için hazırlanan 0,1 g/L'lik endosulfan stok çözeltisi kullanılmıştır. Stok çözeltiden seyreltme işlemi yapılarak 100, 75, 50, 25 ve 10 µg/L lik standart çözeltiler hazırlanarak α- ve β- endosulfan kalibrasyon grafikleri hazırlanmıştır. Endosulfanın iki izomeri olduğu için alfa ve beta izomeri için iki ayrı kalibrasyon tablosu oluşturulmuştur. Bu kalibrasyon değerleri ile analizler gerçekleştirilmiştir. Endosulfan analizi için elde edilen kalibrasyon tablosu, Ek.1.'de verilmektedir. Endosulfan alfa ve beta izomeri için oluşturulan kalibrasyon grafikleri, Şekil 5.5.'de, Şekil 5.6.'de ve endosulfan alfa ve beta izomeri örnek analiz sonuç gösterimi, Şekil 5.7.'de verilmektedir.



Şekil 5.5. GC/ECD’de Alfa endosulfan analizi için kalibrasyon grafiği.



Şekil 5.6 GC/ECD’de Beta endosulfan analizi için kalibrasyon grafiği.



Cst : Kalibrasyon standardının konsantrasyonu, mg/L

Çizelge 5.4. Alfa endosulfan için ekstraksiyon verimlilikleri

$\alpha$ -Endosulfan ( $\mu\text{g/l}$ )	Okuma sonuçları				Ortalama	% RSD	% RE
	1	2	3	4			
25	21,8	20,6	20,1	20,3	20,7	0,8	82,8
50	41,6	38,4	32,4	23,2	33,9	8,1	67,8
75	61,1	45,9	48,7	52,8	52,1	6,6	69,5
100	87,4	82,8	78	79,5	81,9	4,2	81,9

Çizelge 5.5. Beta endosulfan için ekstraksiyon verimlilikleri

$\beta$ -Endosulfan ( $\mu\text{g/l}$ )	Okuma sonuçları				Ortalama	% RSD	% RE
	1	2	3	4			
25	36,3	34,2	33,9	34,7	34,8	1,1	139,1
50	67,1	61,6	51,8	37	54,4	13,2	108,8
75	96,5	69,1	72,3	80	79,5	12,2	106,0
100	139,6	131,5	122,6	126,3	130	7,4	130

Çizelge 5.6. Toplam endosulfan için ekstraksiyon verimlilikleri

$\Sigma$ -Endosulfan ( $\mu\text{g/l}$ )	Okuma sonuçları				Ortalama	% RSD	% RE
	1	2	3	4			
25	58,1	54,8	54	54,7	55,4	1,8	110,8
50	108,7	100,1	84,2	60,3	88,3	21,3	88,3
75	157,7	115,1	121	132,9	131,7	18,9	87,8
100	227,1	214,3	200,6	205,8	212,0	11,6	106,0

Yapılan analizlerde, bağıl standart sapmanın (RSD) % 22'nin altında, ekstraksiyon verimliliğinin ( % RE ) % 87 -139 arasında değiştiği görülmüştür.

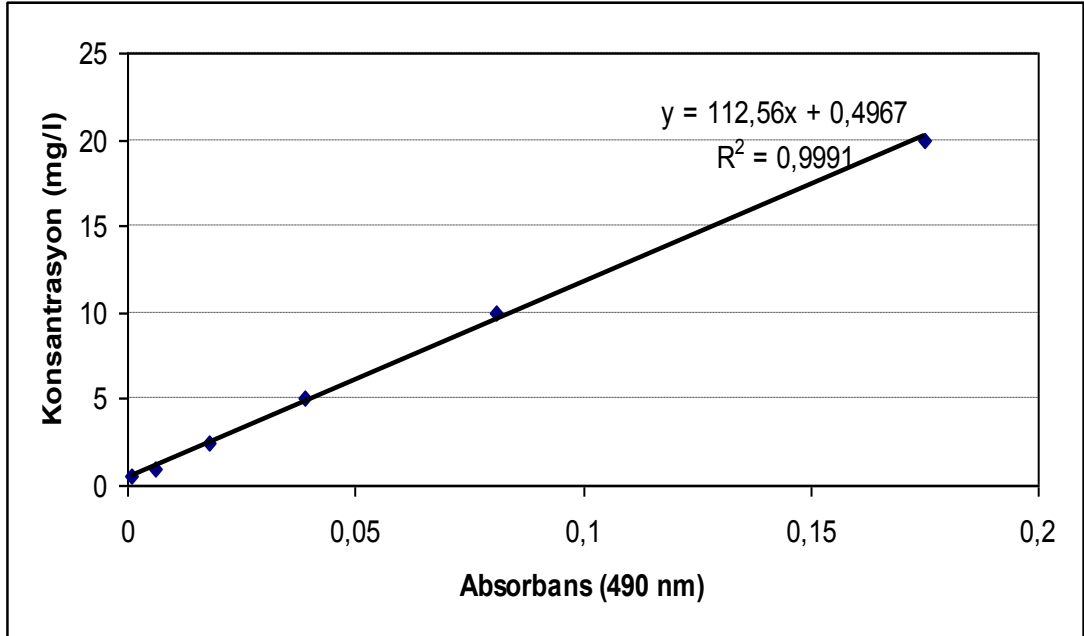
## 5.2 Glikoz Analizi

Endosulfanın biyolojik parçalanmasında ek karbon kaynağının etkisini belirlemek amacı ile glikoz içeren düzenekler kullanılmıştır. Glikoz analizi, Dubois yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Dubois vd., 1956). Yöntem kolorimetrik esaslara dayalıdır. Glikoz içerisinde bulunan metil eter gruplarının, fenol ve konsantre sülfirik asitle reaksiyona girmesi sonucu

oluşan sarı turuncu rengin spektrofotometre de ölçülmesi sonucunda, glikoz miktarı tespit edilir. Glikoz ölçüm prosedürü, aşağıda belirtilmiştir.

- Bidistile su kullanılarak % 80 lik fenol çözeltisi hazırlanır.
- 2 mL'lik örnekler üzerine, hazırlanan %80'lik fenol çözeltisinden 0,05 ml ilave edilir.
- Bu örnekler üzerine 5 mL konsantre H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ilave edildikten sonra vorteks ile karıştırılır.
- Örnekler öncelikle 10 dakika oda sıcaklığında, 15 dakika ise 30 °C'ye ayarlanmış su banyosunda bekletilir.
- 490 nm dalga boyunda spektrofotometre de absorbans değeri okunur.

Şahit numune olarak bidistile su kullanılmıştır. Şekil 5.8.'de glikoz ölçümleri sırasında kullanılan kalibrasyon eğrisi verilmektedir.



Şekil 5.8. 0-20 mg/L arasındaki glikoz ölçümlerinde kullanılan kalibrasyon eğrisi.

### 5.2.1 Mikroorganizma Kütlesinin Belirlenmesi

Biyolojik proseslerde hücre büyümesi, kullanılan organik ya da inorganik substratlara doğrudan bağlantılıdır. Bakteriyel büyüme neticesinde oluşan

yeni hücrelerin miktarının tespiti ya da bir diğer deyişle bakteriyel büyümenin ölçümü çeşitli parametrelerle yapılabilir. Bunlardan en çok kullanılanları uçucu askıda katı madde tayinidir. Bakteri hücresi yaklaşık olarak %85 oranında organik yani uçucu maddeden, yaklaşık % 15'i inorganik maddeden ibarettir. Tüm biyolojik reaktör dizaynları substrat ve nütrientlere göre kütle dengesi ifadeleri yazılarak yapılır (Metcalf ve Eddy, 2003). Bu nedenle çalışma kapsamında mikroorganizma kütlelerinin belirlenmesi çalışmaları aşağıda belirtilen metot ile yapılmıştır.

Kesikli reaktör deneylerinde, mikroorganizma kütlelerinin belirlenebilmesi için reaktörlerin her birinden 10 mL numune alınmış numune krozelere boşaltılarak 105<sup>0</sup>C fırında 24 saat süre ile bekletilerek su uçurulmuş ve kalan katı maddenin nemden etkilenmemesi ve tam kuruması için desikatörde oda sıcaklığına gelene kadar bekletilerek tartılmıştır. Toplam Katı Madde (TKM) miktarı ise 550<sup>0</sup>C de 5 saat süre ile numunelerin yakılması sonucu elde edilmiştir.

Hesaplamlarda aşağıdaki formül kullanılmıştır.

$$\text{Toplam Katı Madde} = (A-B) \times 1000 / \text{ml numune} \quad (5.2)$$

Burada;

A= Kroze + numune tartımı (mg)

B= Krozenin darası (mg)

$$\text{Toplam Uçucu Katı Madde} = (A-B) \times 1000 / C \quad (5.3)$$

Burada;

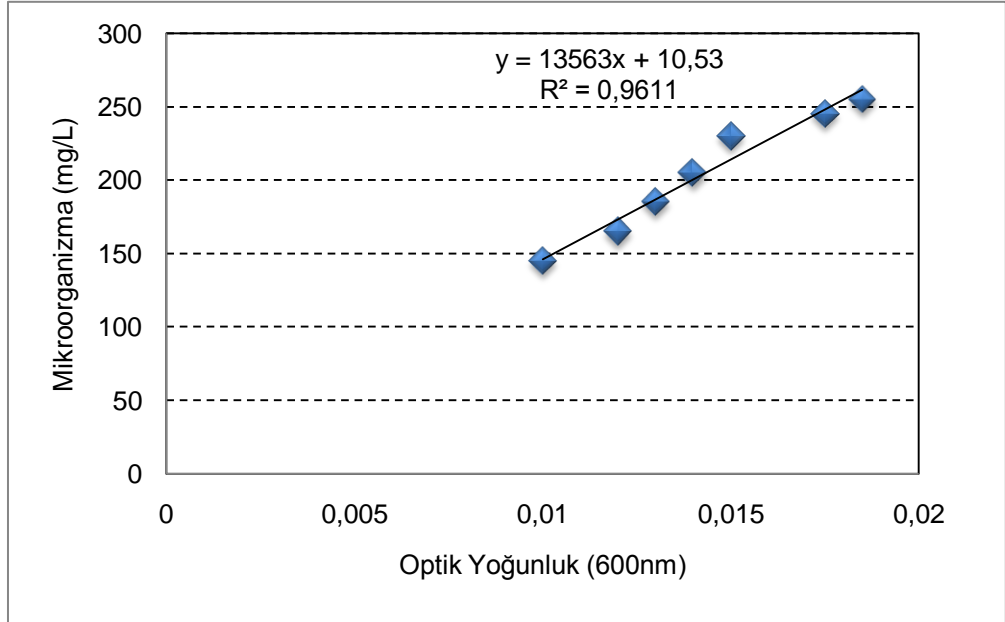
A= Kroze + içindeki katı madde (fırında yakmadan önce) (mg)

B= Krozenin + içindeki katı madde (550<sup>0</sup>C fırında yaktıktan sonra)

C= ml numune

Deneyisel çalışmalarda sıvı ortamdaki mikroorganizmalarda gözlenen değişimler, 600nm dalga boyunda yapılan optik yoğunluk ölçümleri ile belirlenmiştir.

Mikroorganizma büyüme grafikleri elde etmek için optik yoğunluk (600nm) değerine karşılık gelen mikroorganizma değerinin kütle cinsinde ifadesi için aşığıda verilen kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur. 600 nm dalga boyunda, ölçülen optik yoğunluk değerinin mikroorganizma kütlesi cinsinden ifade edilmesi için kullanılan kalibrasyon grafiği, Şekil 5.9.'da gösterilmektedir.



Şekil 5.9. 600 nm dalga boyunda ölçülen optik yoğunluk değerinin kütleli olarak mikroorganizma değeri kalibrasyon grafiği

### 5.3 Elektron Mikroskop ve Enerji Yayılımlı x-Işını Spektroskopisi

Elektron mikroskop çalışmaları, zeolitin yüzeyinde oluşan biyofilmi ve izole edilen mikroorganizmaların yüzey özelliklerini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Enerji Yayılımlı X-Işını Spektroskopisi çalışması ise zeolitin ve zeolit yüzeyinde biyofilm gelişmesi sonucunda kimyasal karakterizasyonunu belirlemek için kullanılmıştır. Deney prosedürü aşığıda belirtilmektedir.

Elektron Mikroskop görüntüleme ve Enerji Yayımlı X-Işını Spektroskopi (Energy Dispersive X-Ray Spectrometry, EDS) analizleri Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Jeoloji Mühendisliği Bölümü Elektron Mikroskopi ve Mikroanaliz Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Analizler sırasında Carl Zeiss EVO-50 EP Taramalı Elektron Mikroskop (SEM) ile tümleşik Bruker-Axs XFlash 3001 SDD (Silicon Drift Detector) EDS cihazı kullanılmıştır.

Zeiss EVO 50 EP taramalı elektron mikroskop hem yüksek hem de düşük vakum (~3000 Pa) koşullarında çalışabilmektedir. Elektron kaynağı W filaman olup, ivmelendirici gerilim 500V-30 kV arasında değiştirilebilmektedir. Uygun koşullarda düşük vakum altında 4,5 nm, yüksek vakum altında ise 3 nm çözünürlük elde edilebilmektedir.

Cihaz, 127 eV enerji çözünürlüğüne sahip, sıvı soğutma gerektirmeyen Silicon Drift (SDD) tip X-ışını dedektörü içeren Bruker-Axs Xflash 3001 enerji dağılım spektrometresi (EDS) ile atom numarası 5-92 arasında olan tüm elementler kalitatif, yarı kantitatif ve tam kantitatif olarak ölçülür.

Analizler; 50<sup>0</sup>C'de sıcaklıkta tamamen, örneğin suyu buharlaştırılma işlemi yapılarak yüksek vakum koşullarında, yüzeylere iletkenlik sağlamak için Polaron TB500 ve EMS SC-3200 ile karbon buharı kaplandıktan sonra gerçekleştirilmiştir. Mikrografları çekmek için gerekli çalışma koşulları, 25 kv ivmelendirici gerilim, 8 nA demet akımı, 45 saniye ölçme zamanı, 10 mm odak mesafesi olarak belirlenmiştir.

#### **5.4 Çalışmada Kullanılan Reaktörler**

Deneyisel çalışmalarda, kesikli reaktör ve kolon reaktör olmak üzere iki tip reaktör kullanılmıştır. Kesikli reaktörler, karışık mikroorganizma kültürünün endosulfanı parçalama verimliliği, kirleticinin parçalanması için mikroorganizmaların üretilmesi ve mikroorganizmaların üreme kinetiklerinin belirlenmesi gibi mikrokozma çalışmaları gerektiren uygulamalarda; kolon

reaktörde ise gözenekli yüzey üzerinde mikroorganizmaların biyobariyer oluşturma potansiyelinin belirlenerek ve arıtım verimi belirlemek amacı ile kullanılmıştır.

#### **5.4.1 Kesikli reaktör**

Mikroorganizmaların endosulfanı biyolojik olarak parçalama parametreleri kesikli reaktörler kullanılarak belirlenmiştir. Kesikli reaktör olarak 1000 ml cam erlenler kullanılmıştır. Fotodegradasyon etkisini belirlemek için yapılan çalışmada, ışık kaynağı olarak gün ışığı kullanılmıştır. Endosulfanın fotodegradasyonunu önlemek için erlenlerin etrafı alüminyum folyo ile sarılarak ışık geçişi engellenmiştir. Deney çalışmalarında bidistile su kullanılmıştır. Kesikli reaktörlerde 1000 mL lik erlenlere 600 mL bidistile su konulmuştur. Mikrokozmların içine kimyasal maddeler eklenmiştir. Hazırlanan kesikli reaktörlere mineral besi ortamı eklendikten sonra ağzı tamponla kapatılmıştır. 121°C de 1,06 bar basınçta 30dakika, otoklavlanarak sterilize edilmiştir. Otoklavdan çıkarılan reaktörler oda sıcaklığına (25°C±2) gelene kadar bekletilmiştir. Soğutulduktan sonra, laminar akışlı kabin içinde steril olarak 100 µg/L endosulfan enjekte edilmiş ve 1 mL mikroorganizma kültürü ilave edilmiştir. Reaktörlerin ağzı tamponla kapatıldıktan sonra 150 rpm hızda (Labcon, 3100U) çalkalayıcı üzerine konulmuş ve karıştırma işlemi sürekli olarak uygulanmıştır. Reaktörlerdeki mikrobiyal üreme, belirli zaman aralıklarında 1 mL örnek üzerinden yapılan optik yoğunluk ölçümleri ile belirlenmiştir. Bu amaçla, UV dijital spektrofotometre (Dr.Lange Cadas 200 spechtrofotometer) kullanılarak 600 nm dalga boyunda ölçülmüştür. pH ayarı 0,1N NaOH ve 0,1N HCl yapılmıştır. pH ölçümleri Orion marka (81028NUWP ROSS Ultra Combination PH meter) pH metre ile ölçülmüştür.

Ayrıca havalandırılmalı ve kesikli olarak hazırlanan reaktörlerde endosulfanın parçalanması üzerine ek karbon kaynağı etkisini belirlemek için glikoz (4 mg/L) eklenerek deneyler yapılmıştır.

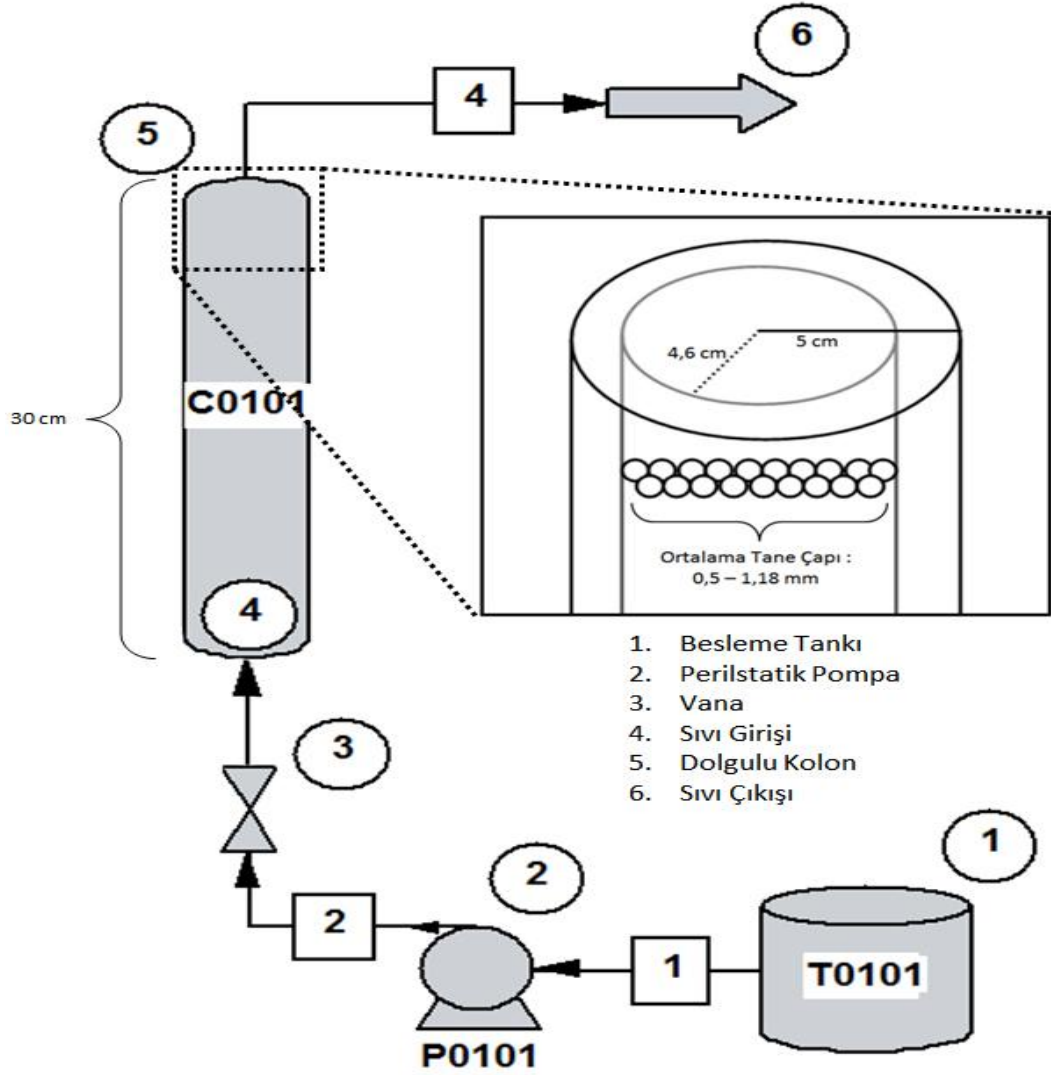
#### 5.4.2 Kolon Reaktör

Kolon reaktör deneyinde, kültür zenginleştirme yöntemi ile topraktan elde edilen ve kesikli reaktör deneylerinde endosulfan parçalanma verimliliği belirlenen mikroorganizmalar ile deneyler yapılmıştır. Dolgu materyali olarak Manisa (Gördes) yöresi doğal zeolit kullanılmıştır. Gözenekli yüzey olarak kullanılan zeolit yüzeyinde mikroorganizmaların biyobariyer oluşturma potansiyeli belirlenerek kirleticinin arıtma verimi belirlenmeye çalışılmıştır. Deneylerde kullanılan kolon reaktörler, şeffaf pleksiglas malzemedan yapılmıştır. Kolon reaktörün özellikleri Çizelge 5.7.'de, deney düzeneği Şekil 5.10.'de gösterilmiştir.

Kolon reaktörlerde dolgu maddesi olarak, doğal zeolit kullanılmıştır. Kullanılan zeolitın gözenek çapını belirlemek amacı ile elek analizi yapılmıştır. Gözenek çapı 0,85, 0,425, 0,25, 0.16 mm ve 0,075 mm olan eleklerle elenmiş ve kullanılan zeolitın gözenek çap büyüklüğü dağılım yüzdesi belirlenmiştir. Elek analiz sonuçları, Ek 2.'de verilmektedir.

Çizelge 5.7.Kolon reaktörün özellikleri

Kolon dış çapı (cm)	5
Kolon iç çapı (cm)	4,6
Kolon yüksekliği (cm)	33
Ortalama Tane Çapı (mm)	0,5-1,18



Şekil 5.10. Deney düzeneği

#### 5.4.2.1 Kolon Reaktörün Doldurulması

Reaktörde, homojen gözenek yapısı elde edebilmek için, yaş doldurma yöntemi kullanılmıştır. Deney kolonu, zeolit ile doldurulurken, öncelikle boş olan kolona bir miktar mineral besi çözeltisi ilave edilmiş, çözelti üzerine bir miktar zeolit ilave edilerek, basınç uygulanmış ve iyice sıkışması sağlanmıştır. Bu şekilde kolon kademeli olarak besi çözeltisi ve zeolit ile doldurulmuştur.

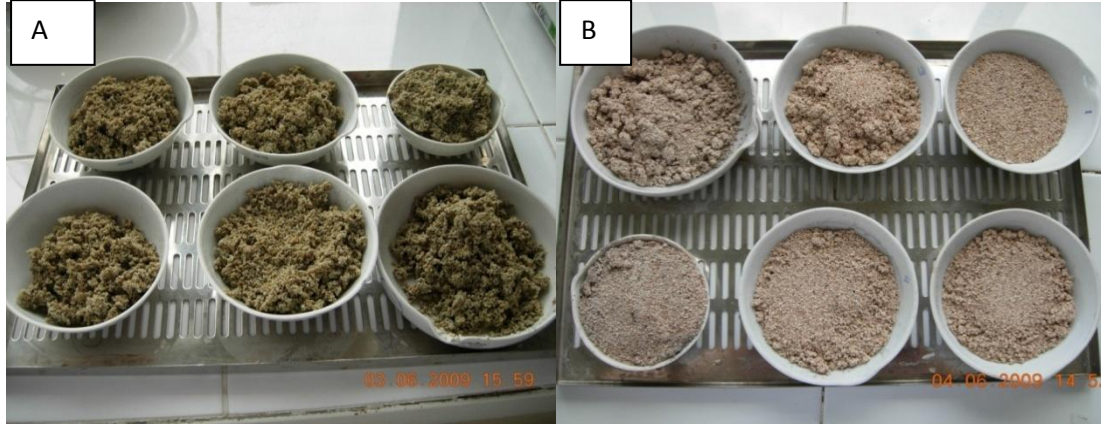
#### **5.4.2.2 Kolon Reaktörün Deney Düzenegi**

Deneyler esnasında, cam kap içerisinde zeolit, taşınımı izlenecek olan iz madde, besi ve 100 µg/L endosulfan konulmuştur. Endosulfanın fotodegradasyonunu önlemek için cam kabın etrafı alimünyum folyo ile sarılmış ve peristatik pompa yardımı ile dolgulu kolon reaktöre beslenmiştir. Kolona besi çözeltisi deney süresince sürekli olarak verilmiştir. Kolonda dolgu maddesi olarak kullanılan zeoliti kolonda tutarak akışı sağlamak için kolon giriş ve çıkış noktaları, gözenek çapı zeolit taneciklerinin geçiş yapamayacağı fakat sirkülasyonu engellemeyecek boyutta olan plastik tel ile kapatılmıştır. Giriş noktasındaki tel, gelen akımı homojen bir şekilde dağıtabilmek amaçlı kullanılmıştır.

Deneyler sırasında su sirkülasyonu, peristatik pompa ile sağlanmıştır. Kolondaki akış hızı, peristatik pompanın hız ayarı ile sağlanmıştır.

#### **5.4.2.3 Kolonda Tutulan Mikroorganizma Miktarının Belirlenmesi**

Kolon reaktörün giriş kısmından başlayarak kolon boyunca 5, 10, 15, 20, 25 cm ve çıkış kısmı olan 30 cm'den homojenize edilerek alınan zeolit örneklerinin, TKM ve Toplam Askıda Katı Madde (TAKM) analizleri gerçekleştirilmiştir. Alınan zeolit örnekleri, krozelere konularak etüvde 105 °C'de 24 saat kurutulup, desikatörde soğutulduktan sonra tartılarak TKM değerleri belirlenmiştir. TUAKM tayininden sonra krozeler fırında 550 °C'de 5 saat yakılıp desikatörde soğutulduktan sonra alınan tartım değerleri ile uçucu katıların miktarı hesaplanmıştır (Standart Methods, 1998). Kolon reaktörlerden alınan zeolit örneklerinin fotoğrafı, Şekil 5.11.'de verilmektedir.



Şekil 5.11. Kolon reaktörden alınan zeolit örneklerinin fotoğrafı A) Kolondan çıkarıldıktan hemen sonra B) 550°C'de yakıldıktan sonra.

#### 5.4.2.4 Kolonda Taşınım Deneyleri-İz Madde Testi

Kolon reaktörde, biyobariyer oluşumu ve reaktörün hidrodinamik koşullarını belirlemek amacı ile iz madde belirleme çalışmaları yapılmıştır.

Deney çalışmalarında, model biyobariyer olarak dikey konulandırılmış piston akışlı kolon reaktör kullanılmıştır. Biyofilm gelişimi için dolgu malzemesi olarak, Manisa (Gördes) yöresinden getirilen doğal zeolit kullanılmıştır. Kolon reaktörde, izleyici taşınım deneyleri mikroorganizmalar kolona aşılardan önce, kolonun akış özelliklerini belirlemek ve mikroorganizma aşılandıktan sonra biyofilm gelişimini belirlemek amacı ile kullanılmıştır. Bu amaçla dolgulu kolona uygun (yüzeyle en az etkileşen ve biyofilme zarar vermeyecek) iz maddenin belirlenmesi amacıyla  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{KCl}$  ve  $\text{NaCl}$  ile deneysel çalışmalar yapılmıştır.

#### 5.4.2.5 E -Eğrisi Bulunması İçin Deneysel Metot

Bu metot ile izleyici testler sonucunda elde edilen verileri kullanarak biyofilm oluşturma ve kolon reaktör akış şartlarındaki değişiklikler belirlenmiştir. Akışkan elementler reaktör boyunca farklı yönlerden değişik zamanlarda geçerler. E eğrisi ile akışkanın reaktörden geçmesi için geçen zaman bulunur. E eğrilerine çıkış yaş dağılımı ya da reaktörde kalma süresi dağılımı RTD denir. Akışkanın reaktörde kalma süresine RTD de denir. E birimi zaman<sup>-1</sup> dir.

$$\int_0^{\infty} E dt = 1 \quad [ - ] \quad (5.4)$$

E eğri bulmanın en basit yolu fiziksel veya tepkisel olmayan bir izleyici kullanmaktır. Bununla birlikte özel amaçlar için reaktif izleyici kullanmak isteyebiliriz. V (m<sup>3</sup>/s) akış hızında V hacmindeki bir kap için E eğrisini bulunur. Kaba giren M biriminde akışkan (mol yada kg) izleyici için ve kaptan ayrılan izleyicininin konsantrasyon - zaman kayıt edilir. Bu C eğrisidir. Kap için madde dengesinden;

$$\left[ \begin{array}{l} \text{C pik eğrinin} \\ \text{altında kalan alan} \end{array} \right]: A = \int_0^{\infty} C \cdot dt \cong \sum_i C_i \Delta t_i = \frac{M}{V} \quad \left[ \frac{kg \cdot s}{m^3} \right] \quad (5.5)$$

$$\left[ \begin{array}{l} \text{C pik eğrinin} \\ \text{ortalaması} \end{array} \right]: \bar{t} = \frac{\int_0^{\infty} t C dt}{\int_0^{\infty} C dt} \cong \frac{\sum_i t_i C_i \Delta t_i}{\sum_i C_i \Delta t_i} = \frac{V}{v} [s] \quad (5.6)$$

## 5.5 Zeolitin Kimyasal Karakterizasyonu

İzleyici kimyasalların ve endosulfanın zeolit yapısında meydana getirdiği kimyasal değişikliği anlamak için elektron taramalı X-ray spektrofotometresinde (EDS) zeolitin kimyasal karakterizasyonu yapılmıştır. Bu metot, çeşitli uçucu küllerin kimyasal karakterizasyonunda (Kutchko ve Kim, 2006), biyolojik indikatörlerin yüzeyindeki kimyasalların karakterizasyonunda (Szynkowska vd, 2008), toprakta bakır analizinde (Sayen vd, 2009), denizde taş çapaların üzerinde kimyasal karakterizasyonun belirlenmesi (Tripathi, 2010), gibi literatürde pek çok alanda kullanılmaktadır. Literatürde, EDS yöntemi ile kimyasal karakterizasyonun belirlendiğine yönelik çalışmalar vardır. Bu nedenden dolayı, aşağıda verilen deney çalışması yapılmıştır. Deney çalışması fotoğrafı, Şekil 5.12.'de verilmektedir. Çalışmada aşağıda verilen deney prosedürü uygulanmıştır.

- 250 mL'lik 4 tane erlene 50 ml saf su, 1g/L KCl, NaCl ,CaCl<sub>2</sub>, 1g/L endosulfan ve 1g zeolit eklenmiştir.
- Bu karışım 7 gün süre ile manyetik karıştırıcıda sürekli çalkanlanmıştır.
- 7 gün sonunda içerisindeki zeolit örneği alınarak, üzerindeki su bileşiği 105<sup>0</sup>C'de buharlaştırıldıktan sonra SEM görüntüleme ve Enerji Yayımlı X-Işını Spektroskopi (Energy Dispersive X-Ray Spectrometry, EDS) kimyasal karakterizasyonu yapılmıştır.



Şekil 5.12. Deneysel çalışmanın fotoğrafı

## 5.6 Biyobariyer Çalışması

Endosulfanın biyobariyer kullanarak giderilmesini incelemek için bir sistem hazırlanmıştır. Kolon reaktör kullanarak yapılan çalışmalarda, tanımlaması yapılan üç tür mikroorganizma suşu ve dolgu maddesi olarak zeolit kullanılmış, akış tek ekseninde sağlanmıştır. Kolon boyutları akış düzenini bozmayacak ölçülerde oluşturulmuştur. Çalışmalarda kullanılan yeraltı sularında gözlenen düşük debiler (0,005 mL/sn) kullanılmıştır. Sistemde fotodegradasyonun etkilerin engellemek için kolonların ve su deposunun ışığa maruziyeti engellenmiştir. Çalışmalarda kolon içinde biyofilm gelişimini belirlemek için NaCl iz madde olarak kullanılmıştır. Aylık periyotlarda yapılan İz madde çalışmalarında deney süresini kısaltmak için daha yüksek debiler kullanılmıştır. İz madde deneyleri iki saat içinde tamamlanmıştır. Kolondaki

iyon dengesini bozmamak için kullanılan besi ortamına oldukça yakın tuz solüsyonu kullanılmıştır (0,5 g/L). İz madde çalışmalarında anlık ve sürekli sinyal metotları kullanılmıştır. Anlık yüklemeler toplam sürenin 1/60'dan daha kısa sürede yapılmış böylece dirak fonksiyonu için geçerli şartlar sağlanmıştır. Çalışma sonunda kolonlardan alınan örneklerde oluşan biyofilm toplam organik madde ve elektron mikroskopisi ile belirlenmiştir.

### 5.6.1 Biyobariyerin Hidrodinamik Koşullarının Belirlenmesi

Gözenekli ortamda biofilm oluşumu, ortamın hidrodinamik karakteristiklerini etkilemesinden dolayı boş gözenekleri azalması ile sonuçlanacaktır. Önemli hidrodinamik değişkenler porozite ( $\alpha$ ), permeabilite ve şekil faktörü ( $f$ )'dür. Hidrodinamik eşitlikler aşağıda verilmektedir (Cunningham vd, 1991).

$$\text{Darcy Kanunu} \quad : \quad V = -Kdh/dL \quad (5.7)$$

$$\text{İçsel Geçirgenlik} \quad : \quad k = Kv/g \quad (5.8)$$

$$\text{Ortam Porozitesi} \quad : \quad \alpha = \frac{Vp}{Vt} \quad (5.9)$$

Gözenekli ortamda yük kaybı için Carmen-Kozeny Eşitliği:

$$h_L = \frac{f(1-\alpha)Lv^2}{\theta \alpha^3 dg} \quad (5.10)$$

Gözenekli ortam şekil faktörü tahmini için Carmen-Kozeny Teorik Eşitliği

$$f = \frac{150(1-\alpha) + 1,75}{N_R} \quad (5.11)$$

$$\text{Reynolds Sayısı} \quad : \quad N_R = dv/v \quad (5.12)$$

Yukarıdaki formüllerde verilen birimlerin tanımlaması aşağıdaki gibidir:

$$V = \text{Özgül debi} \quad (\text{mm/s})$$

$$K = \text{Hidrolik iletkenlik} \quad (\text{mm/s})$$

$$k = \text{permeabilite} \quad (\text{cm}^2)$$

$$\frac{dh}{dl} = \text{Piezometrik eğim}$$

$\nu$	Kinematik vizkozite	(m <sup>2</sup> /s)
$g$	Yerçekimi sabiti	9,8 m/s <sup>2</sup>
$\alpha$	Porozite	
$V_p$	Örnek ortamın gözenek hacmi	(cm <sup>3</sup> )
$V_t$	Örnek ortamın toplam hacmi	(cm <sup>3</sup> )
$h_L$	Yük kaybı	(m)
$f$	Gözenekli ortam şekil faktörü	
$d$	Ortam partiküllerin çapı	(mm)
$\theta$	Şekil faktörü (genellikle 1)	
$L$	Akış yol uzunluğu	(cm)
$N_R$	Gözenekli ortamın Reynolds sayısı	

Yukarıda verilen eşitlikler, kullanılarak kolon reaktörün hidrodinamik koşulları hesaplanmış ve sonuçlar bölümünde verilmiştir.

Tez çalışması sırasında kullanılan deneysel metodlar ve analiz yöntemleri, öncelikle standart metodlardan, literatürden alınan yayınlardan oluşturulmuştur.

## 6. SONUÇLAR

Biyobariyer, üzerinde yeni çalışılmaya başlanmış, tasarımının ve kontrol mekanizmalarının geliştirilmesi gereken bir arıtım teknolojisidir. Bu teknoloji, çevre biyoteknolojisi konuları arasında arıtım esnekliği ve ekonomik olması nedeni ile ilgi uyandırmaktadır. Biyobariyerde etkin kısım, bariyer yüzeyinde oluşan biyofilmdir. Biyobariyerin taşıyıcı kısmını oluşturan dolgu maddesi fiziksel var oluşunun yanı sıra bariyerin arıtım etkinliğine katkısı ile de tasarımın önemli bir parçasıdır. Tez çalışmasında, biyobariyer oluşturulurken dolgu maddesi yukarıda vurgulanan nedenlere bağlı kalınarak seçilmiş ve incelenmiştir.

Endosulfan toksik oluşu, ekolojik sistemlerdeki kalıcılığı ve arıtımının henüz tam olarak ortaya konmamış olması nedeni ile biyoteknoloji çalışmaları için model kimyasal olarak seçilmiştir. Altı klorlu bu pestisit belirli ülkelerde yasaklı olmasına karşın tarımsal faaliyetlerde önemli ülkelerde (örneğin Hindistan) yasaklanmamıştır. Ayrıca pek çok yasaklı ülkede denetiminin nasıl yapılacağı belirsizdir. Bu nedenlerle endosulfan ekosistemde konsantrasyonu artmasa bile, uzun süre kalıcı olacaktır.

Tez çalışmasında, klorlu organik bileşik olan endosulfanın biyolojik olarak parçalanması için zeolit dolgulu biyobariyer geliştirilmiştir. Çalışma üç aşamalı planlanmış ve tez çalışmasının sonuçları üç bölüm altında aşağıda sunulmuştur.

Birinci bölümde, endosulfanı parçalayabilen mikroorganizmaları elde etmek için yapılan çalışmalar yer almaktadır. Bunun için kültür zenginleştirme metodu ile topraktan mikroorganizma suşları izole edilmiştir. Mikroorganizmaların izolasyon sonrası tür tanımlaması PCR tekniği ile yapılmıştır.

İkinci bölümde, elde edilen bakteri türlerinin endosulfanı parçalama çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalarda, kesikli reaktörler kullanılmıştır.

Bütün alışmalar steril ortamlarda gerçekleştirilmiştir. Çalışmada ayrıca endosulfanın parçalanabilirliği üzerinde fotodegradasyonun, pH'ın ve karbon kaynağının etkisi araştırılmıştır. Bütün alışmalar sabit oda sıcaklığında ( $T=22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) yapılmıştır. Kesikli reaktörlerde, mikroorganizmanın endosulfanın yapısındaki sülfürü kullanarak parçalanmasını sağlamak amacı ile, kompozisyonu materyal ve metot bölümünde verilmiş olan, sülfürsüz mineral besi ortamı hazırlanmıştır. Bütün çalışmalarda bu temel besi ortamı kullanılmıştır.

Üçüncü bölümde, tanımlamaları yapılan ve parçalama kinetikleri belirlenen üç tür mikroorganizma kullanılarak oluşturulan biyobariyerde endosulfanın biyolojik olarak parçalanma süreci araştırılmıştır. Biyobariyer dolgu maddesi olarak kullanılan doğal zeolit, Manisa (Gördes) yöresinden getirilmiştir. Kullanılan doğal zeolitın XRD ve XRF analizleri MTA laboratuvarında yaptırılmıştır. Kolon reaktörde, biyobariyer oluşturma sürecini ve akış şartlarını kontrol etmek için izleyici madde belirleme çalışmaları yapılmıştır. Her bir set de iki adet olmak üzere toplam 4 adet kolon reaktör çalışması yapılmıştır. Birinci set deney, birinci kolonda  $\text{pH}=6,5$  ve endosulfan mineral çözelti, ikinci kolonda ise  $\text{pH}=8,3$  olarak düzenlenmiş ve ek karbon kaynağı glikoz eklenerek endosulfan parçalanma verimi belirlenmiştir. İkinci grup çalışmalarda, önceki çalışmanın sonuçlarından yola çıkılarak; reaktörde  $\text{pH}=6,5$  olarak belirlenmiş ve endosulfan içeren mineral çözelti ile sürekli besleme yapılarak oluşan biyobariyerin endosulfan parçalama verimi belirlenmiştir. Mikroorganizma destek yüzeyi olarak kullanılan zeolitın yüzeyinde oluşan biyofilm belirlemek amacı ile SEM ile yüzey görüntüleri alınmış ve Elektron Taramalı X-Ray Spektrofotometre'de kimyasal karakterizasyon belirleme çalışmaları yapılmıştır. Aşağıda verilen alt başlıklarda yapılan deneylerin sonuçları verilmektedir.

Çalışmada kullanılan besi ortamı, literatürde yer alan kompozisyonlardan farklı değildir. Literatürde, endosulfanın mikroorganizmalar tarafından karbon ve sülfür kaynağı olarak kullanılarak biyolojik parçalanmanın gerçekleştiğini

belirtilen çalışmalar vardır (Guerin, 1999; Sutherland vd. 2002; Siddique vd. 2003; Awasthi vd, 2003; Kumar ve Philip 2006a, 2006b). Bazı araştırmalarda, sadece sülfürsüz mineral besi hazırlayarak endosulfanın sülfür kaynağı olarak kullanırken (Sutherland vd., 2000; Hussain vd, 2007; Arshad vd, 2008, Li vd, 2009; Singh ve Singh, 2010; Elsaid vd., 2010), bazı çalışmalarda endosulfan, bu çalışmada da olduğu gibi karbon kaynağı olarak da kullanılmışlardır (Guha vd, 2000; Kumar vd., 2008b). Çizelge 6.1’de literatür çalışmalarında kullanılan mineral besi ortamları ve bu çalışmada kullanılan besi ortamının bir karşılaştırması verilmektedir.

Çizelge 6.1. Tez çalışmasında kullanılan besi ortamının literatürde kullanılan mineral besi ortamları ile karşılaştırılması.

	Hussain vd, 2007	Sutherland vd., 2000, 2002c	Kumar vd, 2007	Awasthi vd, 2000	Awasthi vd, 2003	Kumar ve Philip, 2006 (b, c)	Lee vd. 2006	Arshad vd, 2008	Kalyani vd., 2009	Bu araştırma
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v
NH <sub>4</sub> Cl	v	v						v	v	v
MgCl <sub>2</sub> _6H <sub>2</sub> O	v	v						v	v	v
FeCl <sub>2</sub> _4H <sub>2</sub> O	v	v						v	v	v
Glikoz	v	v						v	v	
MnCl <sub>2</sub> _4H <sub>2</sub> O	v		v					v	v	v
ZnCl <sub>2</sub>	v							v	v	v
ZnSO <sub>4</sub>				v						
CuCl <sub>2</sub> _2H <sub>2</sub> O	v							v	v	v
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O				v					v	
CoSO <sub>4</sub>				v						
CoCl <sub>2</sub> _6H <sub>2</sub> O	v	v						v		v
NiCl <sub>2</sub> _6H <sub>2</sub> O	v							v	v	
NaCl	v	v								v
(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> .4H <sub>2</sub> O		v								
(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> Cu.H <sub>2</sub> O		v								
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>			v	v						
FeSO <sub>4</sub>			v	v	v	v	v			
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub>			v							
CaCl <sub>2</sub>			v		v	v				v
MgSO <sub>4</sub>			v	v	v	v	v			
MgO				v						
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>					v	v	v			
MnSO <sub>4</sub>							v			
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O				v						v
CaCO <sub>3</sub>				v				v	v	
MgO				v						
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>				v						
FeCl <sub>3</sub> .6 H <sub>2</sub> O										v

## **6.1 Endosulfanı Biyolojik Olarak Parçalayabilen Mikroorganizmaların İzolasyonu ve Mikroorganizma Tanımlama Çalışmaları**

Bugüne kadar yapılmış çalışmalarda, 28 toprak mantarı, 14 toprak bakterisi, 10 toprak *actinomyces* türünün endosulfanı parçaladığını belirlemişlerdir (Elsaid vd., 2010). Endosulfanı parçalayabilen mikroorganizma kültürü sayısındaki azlık endosulfanın parçalanması zor bir kimsiyal olduğunu göstermesi açısından önemlidir. Bölüm 6.2.1.2.'de endosulfanın parçalanması için çalışılmış türler verilmektedir. Bu türlerin büyük bir çoğunluğu, endosulfan ile kirlenmiş topraklardan kültür zenginleştirme tekniği kullanılarak izole edilmiştir (Awasthi vd, 1999; Awasthi 2000; Sutherland vd, 2000; Ghadiri ve Rose, 2001; Lee vd, 2006; Kumar ve Philip 2006a, 2006b, 2006c; Shivaramaiah ve Kennedy 2006; Kumar vd, 2007, Kumar vd., 2008a, 2008b, Singh ve Singh, 2010; Bajaj vd, 2010). Mikrobiyal kültür zenginleştirme tekniğinde, öncelikle bakteri kültürün hangi amaçla kullanılacağına karar verilerek (Gottschal vd, 1992) doğal ortamında düşük sayıda var olan bakterinin büyümesi için seçici ortam (besi yeri) kullanılır (Prescott, 2002; Hogg, 2005; Madsen, 2008; Morello vd, 2002). Bu metotta, mikroorganizmanın doğal ortamındaki fiziksel ve kimyasal koşullar, laboratuvar ortamında sağlanarak organizmanın büyümesi (Yavanos, 2009) ve kirleticiyi parçalayabilen mikroorganizma türü elde edilmesi sağlanır (Coella ve Luis, 2002). Mikroorganizmanın gelişeceği ortamda; bir enerji kaynağı, bir karbon kaynağı bulunmalıdır. Ek olarak pH, sıcaklık ve oksijen mikroorganizmaya uygun olmalıdır (Aaronson, 1989; Green, 2008). Toprak zenginleştirmeleri doğal besi koşullarını oluşturmayı amaçlamaz, mikrobiyal büyüme için bir seçenek oluşturur (Pepper ve Gerba, 2004).

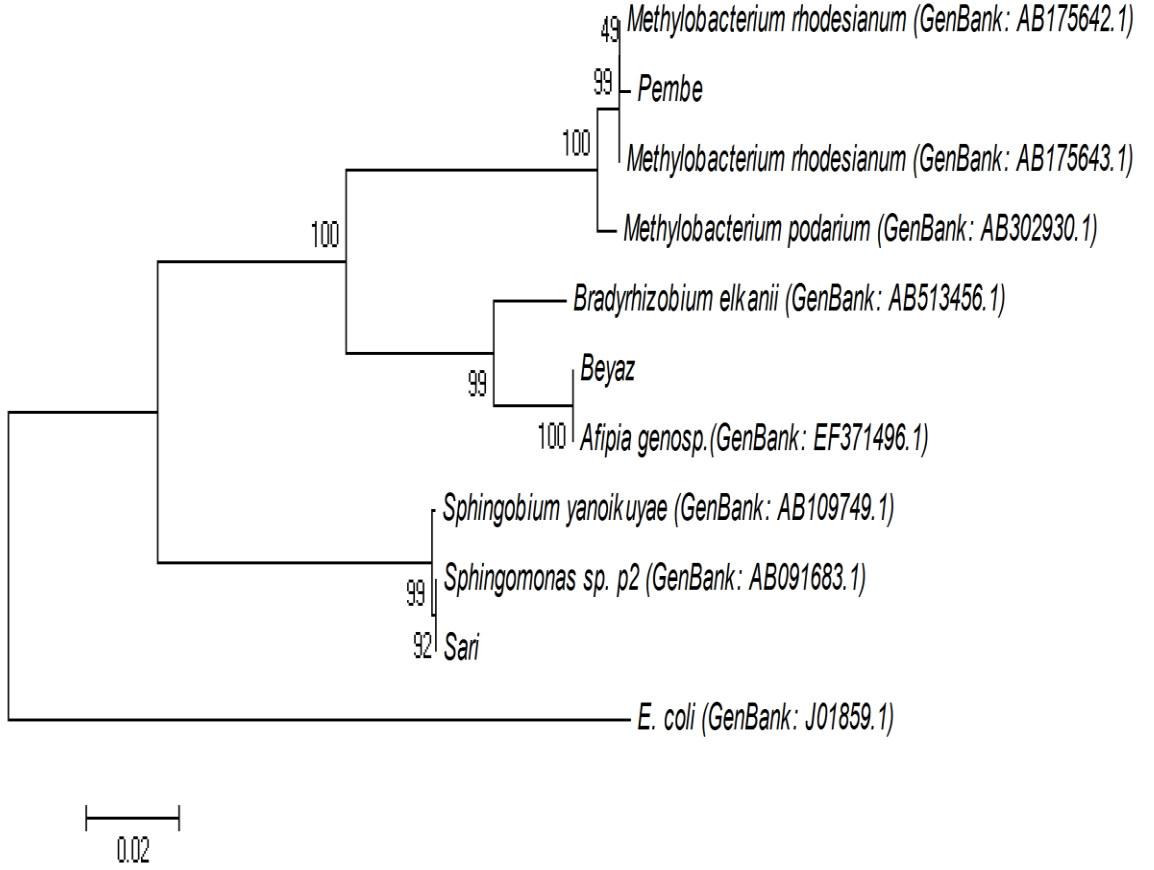
Çalışmaların sonunda, sadece 3 tür mikroorganizma suşu zenginleştirilmiş, izole edilmiş ve koruma altına alınmıştır. Bakteri kültürlerinin hayatta kalmasını sağlamak için 2 ay aralıklar ile yeni yatık agar hazırlanarak, bakteri kültürlerinin devamlılığı sağlanmıştır. İzole edilen bu bakteri kültürlerinin tanımlaması PCR tekniği kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen bakteri kültürleri

tez çalışmasında kullanılmıştır ve Hıfzı Sıhha Enstitüsü koleksiyonuna hediye edilecektir.

Topraktan izole edilen bakteri kültürlerinin izolasyonu yapıldıktan sonra tanımlama çalışması yapılmıştır. Bakteriyi tür olarak tanımlama yapmak için karşılaştırmalı DNA dizi analizi PCR tekniği ile mikrobiyal tanımlama yapılmıştır. En yaygın olan yaklaşım, 16S ribozomal RNA genin 500 baz çiftlik bir bölümünün veya hepsinin PCR ile çoğaltılması ve DNA dizi analizinin yapılmasıdır. Tez çalışmasında da bu teknik kullanılmıştır. Mikrobiyal tanımlama, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü'nde yaptırılmıştır.

#### **6.1.1 Dendrogram (Evrimsel İlişki Ağacı)**

Elde edilen suşların sınıflaması Evrimsel İlişki Ağacı Neighbor-Joining yöntemiyle gösterilmiştir (Saitou ve Nei, 1987) Şekil 6.1'de dal uzunlukları toplamı = 0.39592018 olan optimal ağaç görülmektedir. Bootstrap testte (1000 tekrar) birlikte kümelenmiş olma yüzdeleri dalların yanlarında gösterilmektedir (Felsenstein, 1985). Ağaç, filogenetik ağacın oluşturulmasında kullanılan evrimsel uzaklıklara göre ölçeklendirilerek çizilmiştir. Evrimsel uzaklıklar "Maximum Composite Likelihood Yöntemi"ne göre (Tamura vd, 2004) hesaplanmıştır ve birimi her bir konumdaki baz değişim sayısıdır. Boşluk ve eksik veri içeren tüm pozisyonlar veri setinden ayıklanmıştır. Kullanılan son veri setinde 1382 pozisyon vardır. Filogenetik analizler MEGA4'te yürütülmüştür (Tamura vd, 2007).



Şekil 6.1. Tez çalışmasında elde edilen mikroorganizma kültürlerinin sınıflandırılması

### 6.1.2 İzolatların referans suşlara benzerlik oranları

Bakteri tanımlama çalışmasında, izole edilen suşların referans suşlara göre yerleştirilmesi sonucu;

“Sarı” kodlu örnek;

- *Sphingomonas sp. P2* ile %100,
- *Sphingomonas yanoikuyae* Q1 ile %100 benzerlik göstermektedir.

“Beyaz” kodlu örnek;

- *Afipia genosp.* ile %100,
- *Bradyrhizobium elkanii* ile %96 benzerlik göstermektedir.

“Pembe” kodlu örnek;

- *Methylobacterium rhodesianum* ile %99,
- *Methylobacterium podarium* ile %98

benzerlik göstermektedir.

Tanımlama sonucunda; izole edilen beyaz ve sarı suşlar sırası ile *Afiplia Genosp* türü ve *Sphingomonas yanoikuyae* Q1 ile %100 benzerlik göstermektedir. Pembe renkli suş ise *Methylobacterium rhodesianum* %99 benzerlik göstermektedir.

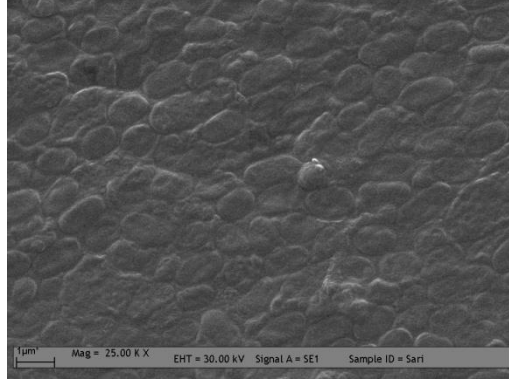
PCR bakteri tanımlaması sonucu dizilimleri, Ek-3.'de verilmektedir. Tanımlaması yapılan bakteri türlerinin hakkında literatür bilgisi, alt başlıkta verilmektedir. Çalışılan bakteri türlerinin besi yerlerinde çekilmiş fotoğrafları, Ek-4.'te verilmektedir.

#### **6.1.2.1.1 Sphingomonas yanoikuyae Q1**

*Sphingomonas* türleri toprakta, temiz su ve deniz suyu çevresinde bulunmaktadır. *Sphingomonas*, birkaç bakteri türü dışında (örneğin, *Zymomonas mobilis* ve *Gluconobacter oxydans*) dış membranlarında glycosphingolipitlere sahip ve lipopolisakkarit içermeyen gram negatif aerobik bakteridir (Yim vd., 2010).

Literatürde yapılan araştırma sonuçlarında *Sphingomonas spp.* türlerinin aromatik bileşikler parçaladığı rapor edilmiştir (Story vd, 2000). Örneğin, dibenzo-p-dioksin ve dibenzofuran (Wittich vd, 1992), karbofuran (Feng vd, 1997), heksaklorosikloheksan (Imai vd, 1991), klorlu bifeniller (Taira vd, 1988), poliklorofenol (Karlson vd, 1996; Leung vd, 1997; Nohynek vd, 1996), 2,4-diklorobenzoik asit (Ka vd, 1994), dehydroabietic asit (Mohn, 1995) basit aromatik ve poliaromatik hidrokarbonların (Fredrickson vd, 1991; Khan vd, 1996) biyolojik parçalanması *Sphingomonas* suşları kullanılarak araştırılmıştır (White vd, 1996). Endosulfanın biyolojik parçalanmasında *Sphingomonas* türü kullanıldığı literatürde rapor edilmemiştir. Aşağıda bu çalışma sırasında, elektron mikroskopu kullanılarak elde edilen

*Sphingomonas yanoikuyae* Q1 suşunun SEM görüntüsü, Şekil 6.2.'de verilmektedir.



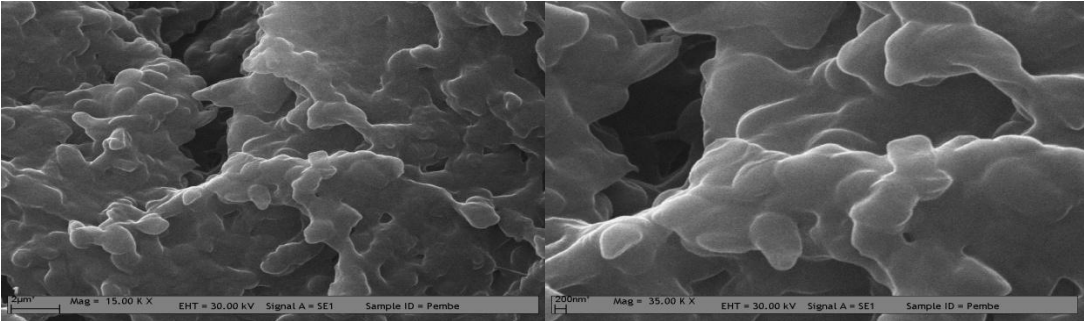
Şekil 6.2. *Sphingomonas yanoikuyae* Q1 türü bakterinin SEM görüntüsü

#### 6.1.2.1.2 *Methylobacterium rhodesianum*

Gram negatif bir bakteri türü olan *Methylobacterium*, karbon ve enerji kaynağı olarak çok kompleks organik bileşikler olduğu kadar metanı da kullanabilme yeteneğine sahiptir (Green ve Bousfield, 1983). Çubuk veya pleomorfik, dallı, aerobik, fakültatif ve methylotrophik bakteridir. Doğal çevrede yaygın olarak bulunur ve toprak, toz, temiz su, göl sedimenti, bitki, pirinç taneleri ve hastane çevresinden izole edilebilmektedir (Green ve Bousfield, 1982, 1983). Bu bakteriler, insanların yaşam alanlarında, içme suyu hatlarında, banyolarda ve yıkama alanlarında bulunabilirler ve pembe jelimsi kütle halinde büyüebilirler. Birçok *Methylobacterium* strains klorlamaya ve ultraviyole ışıkla dezenfeksiyona karşı dirençlidir (Furuhata vd, 1989, 1993; Hiraishi vd, 1995; Kato vd, 2005). Bu türler, sterilizasyondan sonra ve kontamine olmuş alanlarda gıda üretilen çevrelerde hayatta kalabilirler. *Methylobacterium* suşları yavaş büyürler ve zayıf karbon kaynağı olan yerlerde hayatta kalabilirler (Hiraishi vd, 1995; Kato vd, 2005). Çözünmüş oksijen varlığında, herhangi temiz su çevresinden kolaylıkla izole edilebilir. Metanı, tek karbon kaynağı olarak kullanabilme yeteneğine sahiptir. Bu bakteriler, proteobakteriler olarak sınıflandırılmıştır. Metanol ve metilaminde büyüme yetenekleri vardır. *Methylobacterium* türleri bitkilerin

geniş bir çeşitliliğinde yaprakların yüzeyinde ve çoğunlukla toprakta bulunur (Green, 2006; Lidstrom ve Ludmila, 2002).

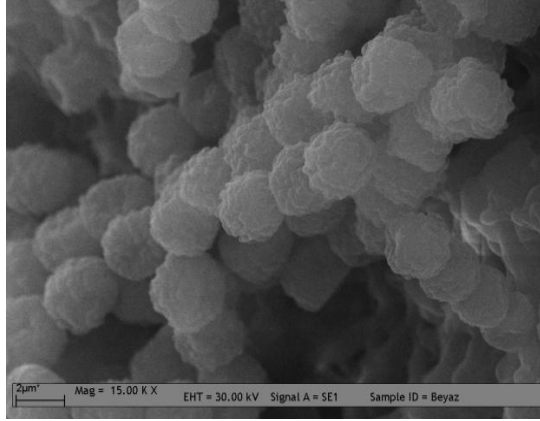
*Methylobacterium* cinsi pembe pigmentli fakültatif *methylophilic* bakterinin (PPFM) bir çeşididir. Tek karbonlu bileşikler üzerinde örneğin, formaldehit ve metanol gibi çok karbonlu büyüme yüzeylerinde, enerji ve karbonu tek kaynak olarak kullanarak büyür. Çoğu nutrient agar üzerinde, bazıları da metillenmiş aminler üzerinde büyüyebilir. Tüm *Methylobacterium* şuş (strains) çubuk (0.8–1.0, 1.0–8.0 mm) şeklindedir. Genellikle dallı yada pleomorfik, özellikle yaşlı durgun faz kültürlerdir. Gram negatif olmalarına rağmen, pek çok şuş gram boyamaları değişkendir. Temsilci şuşlar çok tabakalı hücre duvarı yapısına sahiptir ve gram negatif bakterinin sitrat sentezi tipindedir. Çoğu şuşlar yavaş yavaş büyür. 30°C de 7 gün inkübasyondan sonra Gliserol-Pepton agar üzerinde koloniler 1-3 mm yarıçapında açık pembeden parlak turuncu –kırmızı renktedir. Oysaki, MMS agar üzerinde koloniler uniform açık pembe renktedirler. Tüm şuşlar aerob, katalaz ve oksidaz pozitifdir (Green, 2006). Literatürde, bu tür ile kirletici arıtımına yönelik çalışma bulunmamaktadır. *Methylobacterium sp.* türü ile siyanür arıtımına yönelik çalışma vardır (Campos vd, 2006). *Methylobacterium rhodesianum* türünün elektron mikroskopta çekilen SEM görüntüsü, Şekil 6.3.'de verilmektedir.



Şekil 6.3. *Methylobacterium rhodesianum* türü bakterinin SEM görüntüsü.

### 6.1.2.1.3 *Afipia genosp*

*Afipia* türleri, çubuk şeklinde hücreler, yanal kamçılılarıyla hareket ederler. Gram negatif ve oksidaz pozitifdir. Koloniler, gri-beyaz, parlak, konveks, opak ve 1,5 mm genişliğindedir. 32<sup>0</sup>C'de kanlı agarda 72 saat (3 gün) inkübasyondan sonra şekil alırlar (Brenner vd, 1991; Bergey ve Holt, 1994). Literatürde, *Afipia* türü ile yapılmış çalışma yoktur. *Afipia*'nın başka bir türü olan, *Afipia broomeae* türünün poliaromatik hidrokarbon (PAH) parçalanması ile ilgili çalışma literatürde yer almaktadır (Bodour vd, 2003). *Afipia Genosp* türünün elektron mikroskopta çekilen SEM görüntüsü, Şekil 6.4.'de verilmektedir.



Şekil 6.4. *Afipia Genosp* türü bakterinin elektron mikroskop görüntüsü

Yukarıda verilen bilgiler ve yapılan literatür çalışmaları sonucunda, tez çalışmasında izole edilen mikroorganizmaların endosulfanı parçaladığına yönelik başka bir çalışma bulunamamıştır. Üç bakterininde, ortak özellikleri gram negatif olmalarıdır. Literatürde çalışılan bakterilerin, büyük çoğunluğu gram negatif bakterilerdir. Literatürde, *Sphingomonas yanoikuyae* Q1 türü, klorlu bileşikleri parçalayabildiğine dair araştırmalar (Imai vd, 1991; Taira vd, 1988; Karlson vd, 1996; Leung vd, 1997; Nohynek vd, 1996; Ka vd, 1994) vardır. Yapılan bu çalışmalar, *Sphingomonas yanoikuyae* Q1 klorlu bileşikleri parçalayabildiğini göstermektedir. Tez çalışmasında kullanılan endosulfan, klorlu bir bileşik olduğundan *Sphingomonas yanoikuyae* Q1 türünün endosulfanı parçalayabileceğini göstermektedir. İzole edilen ikinci bakteri

*Methylobacterium rhodesianum* türü, karbon ve enerji kaynağı olarak çok kompleks organik bileşikler, kullanabilme yeteneğine sahiptir (Green ve Bousfield, 1983). Endosulfan bileşiğide parçalanması zor bir bileşik olduğundan *Methylobacterium rhodesianum*, endosulfanı parçalama yeteneği olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, çalışmada izole edilen üç bakteri türünden bir tanesi pembe pigmentlidir. *Methylobacterium rhodesianum*, türünde pembe pigmentli olması (Green, 2006), tanımlamanın doğru olduğunu göstermektedir.

Endosulfan kirleticisini parçalayabilen bakteri türleri, Çizelge 6.2.'de verilmektedir. Bu bakteri türlerinin pek çoğu, tek sülfür kaynağı olarak endosulfanı kullanmakta, endosulfan ve izomerlerini metabolitlere parçalayabilmektedir (Katayama ve Matsumura 1993; Mukherjee ve Gopal 1994; Kullman ve Matsumura 1996).

Çizelge 6.2. Literatürde endosulfan parçalanması için çalışılan bakteri ve mantar türleri.

Bakteri ve Mantar Türü	Endosulfan Bileşiği	Kaynak
<i>Aspergillus niger</i>	α-endo, β-endo	Elzorgani ve Omer, 1974; Mukherjee ve Gopal, 1994; Bhalerao ve Puranik, 2007
<i>Trichoderma harzianum</i>	α-endo, β-endo	Katayama ve Matsumura, 1993
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	Endosulfan	Kullman ve Matsumura, 1996
<i>Mucor thermohyalospora</i> MTCC 1384	α-endo, β-endo	Shetty vd., 2000
<i>Micrococcus</i> sp.	α-endo, β-endo	Guha vd., 2000
<i>Mycobacterium</i> strain		Sutherland vd, 2002 (c)
<i>Bacillus</i> sp. co-culture	α-endo, β-endo	Awasthi vd., 2003
<i>Anabaena</i> sp.	α-endo, β-endo	Lee vd., 2003
<i>Fusarium ventricosum</i> , <i>Pandoraea</i> sp.	α-endo, β-endo	Siddique vd., 2003
<i>Anabaena</i> sp. PCC 720	β-endo	Park ve Lee, 2004
<i>Chlorococcum</i> sp., <i>Scenedesmus</i> sp.	α-endo, β-endo	Sethunathan vd., 2004
<i>Aspergillus terreus</i> <i>Cladosporium oxysporum</i>	α-endo, β-endo	Mukherjee ve Mittal, 2005
<i>Klebsiella oxytoca</i>	α-endo, β-endo	Kwon vd., 2005
<i>Staphylococcus</i> sp, <i>Bacillus circulans</i>	α-endo, β-endo	Kumar ve Philip, 2006
<i>Pseudomonas</i> KS-2P	α-endo, β-endo	Lee vd, 2006
<i>Arthrobacter</i> sp	α-endo, β-endo, Endo- sulfat	Weir vd., 2006
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	α-endo, β-endo, Endo- sulfat	Arshad vd, 2008
<i>Bordetella</i> sp.	α-endo, β-endo	Goswami ve Singh, 2009
<i>Arcromobacter xylosoxidans</i>	α-endo, β-endo	Singh ve Singh, 2010
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	α-endo, β-endo	Kalyani vd., 2009
<i>Arcromobacter xylosoxidans</i> CS5	α-endo, β-endo	Li vd, 2009
<i>Pseudomonas</i> sp. IITR01	α-endo, Endosulfan sulfat	Bajaj vd, 2010
<i>Mortierella</i> sp.	α-endo, β-endo	Kataoka vd., 2010.
<i>Sphingomonas yanoikuyae</i> Q1, <i>Methylobacterium rhodesianum</i> , <i>Afipia</i> Genosp	α-endo, β-endo	Bu araştırma

Bu başlık altında, endosulfanı parçalayabilen bakteriler ve çalışma kapsamında topraktan izole edilen bakteriler hakkında bilgi verilmiştir. Bundan sonraki başlıkta izole edilen bakteri kültürlerinin endosulfanı parçalama kinetik çalışma sonuçları verilmektedir.

## 6.2 Endosulfan Giderim Çalışmaları

Endosulfan, biyolojik olarak parçalanması zor bir bileşiktir. Endosulfanı parçaladığı bilinen mikroorganizma sayısı sınırlıdır ve parçalanma sürecinin mekanizmaları henüz tam olarak bilinmemektedir. Mikroorganizma iziolasyonu ve tanımlanması yapıldıktan sonra elde edilen mikroorganizmaların endosulfanı hangi şartlarda ve hızlarda parçaladığı araştırılmıştır. Giderim çalışmaları, kesikli reaktörlerde yapılmıştır. Deneyler ile kirleticinin parçalanması için kullanılan karışık mikroorganizma kültürünün özgül büyüme hızlarının belirlenmesi, kirleticinin parçalanması üzerine ek karbon kaynağının etkisi, uygun pH aralığının belirlenmesi ve kolon reaktörde biyobariyer oluşturmak amacı ile kullanılan mikroorganizma kültürünün üretilmesi için yapılmıştır.

Deneyisel çalışmalarda, endosulfanın biyolojik parçalanması için kullanılan mikroorganizmaların ortama adaptasyonu ve biyolojik olarak endosulfanı parçalanmasını göstermek için kültür zenginleştirme tekniği metodu ile izole edilen karışık mikroorganizma kültürü kullanılmıştır. Kesikli reaktör deneyleri iki set olarak çalışılmıştır.

1. Endosulfanın parçalanması için fotodegradasyonun etkisi
2. Endosulfanın parçalanması için ek karbon kaynağı ve pH'ın etkisi

Çalışmaların sonuçları aşağıda başlıklar halinde verilmektedir.

### 6.2.1 Endosulfan Parçalanmasında Fotodegradasyon Etkisi

Endosulfan gideriminde, mikrobiyal parçalanma dışındaki proseslerin etkisini belirlemek ve elimine etmek için deneyler yapılmıştır. Kesikli reaktörlerde yürütülen çalışmalar dört grupta toplanmıştır. Deneyisel çalışmalarda, ışık kaynağı olarak gün ışığı kullanılmıştır. Bütün çalışmalar oda sıcaklığında  $23^{\circ}\text{C} \pm 2$ 'de yapılmıştır. Deney şartları, Çizelge 6.3.'de verilmektedir.

Çizelge 6.3. Endosulfan parçalanma deney grupları

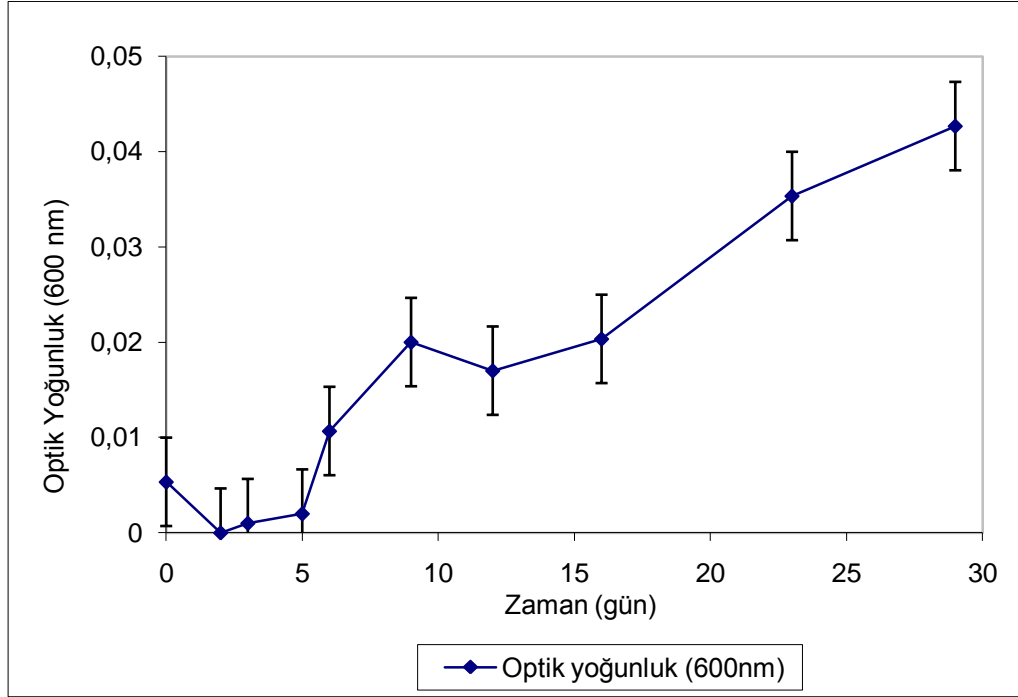
Deney	Mineral Solüsyon	Mikroorganizma	Endosulfan	pH	Ek karbon kaynağı	Işık
D-1	Var	var	0,1 mg/L	6,5±0,1	yok	yok
D-2	Var	var	0,1 mg/L	6,5±0,1	yok	var
D-3	Var	var	0,1 mg/L	6,5±0,1	yok	yok
D-4	Var	var	0,1 mg/L	6,5±0,1	yok	var

Yukarıda verilen D: kesikli deneyi ifade etmektedir. Çalışma sonuçları aşağıda verilmektedir.

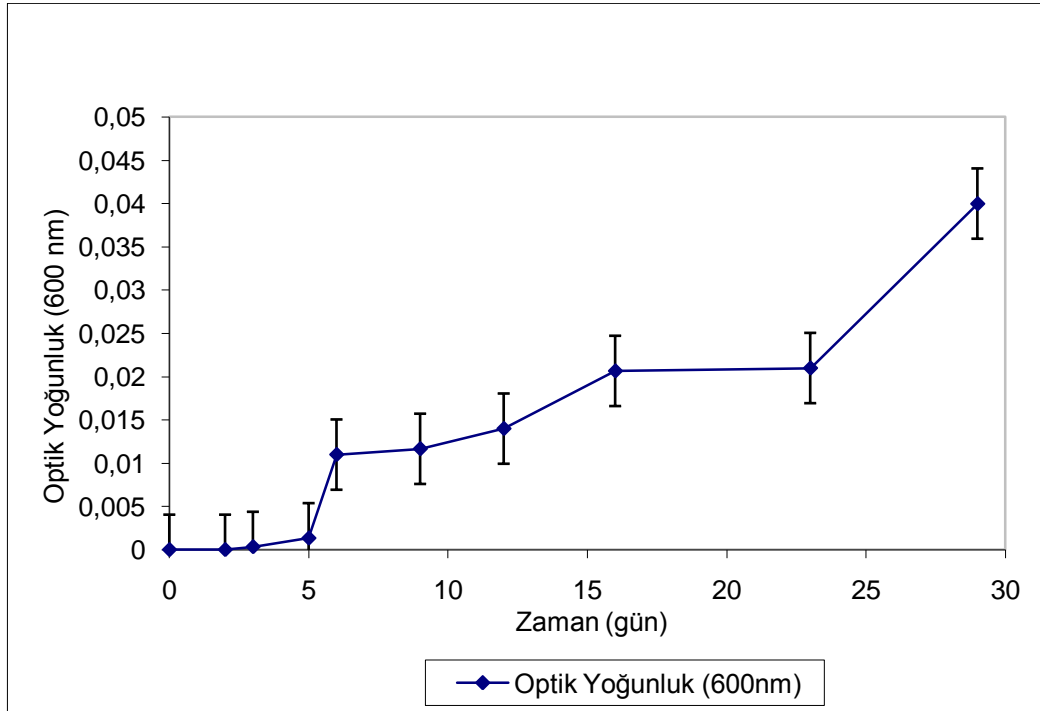
### 6.2.2 Karışık Mikroorganizma Kültürünün Büyüme Evresi

Çalışmalarda, karışık mikroorganizma kültürünün her bir reaktördeki büyüme süreçleri gözlenmiştir.

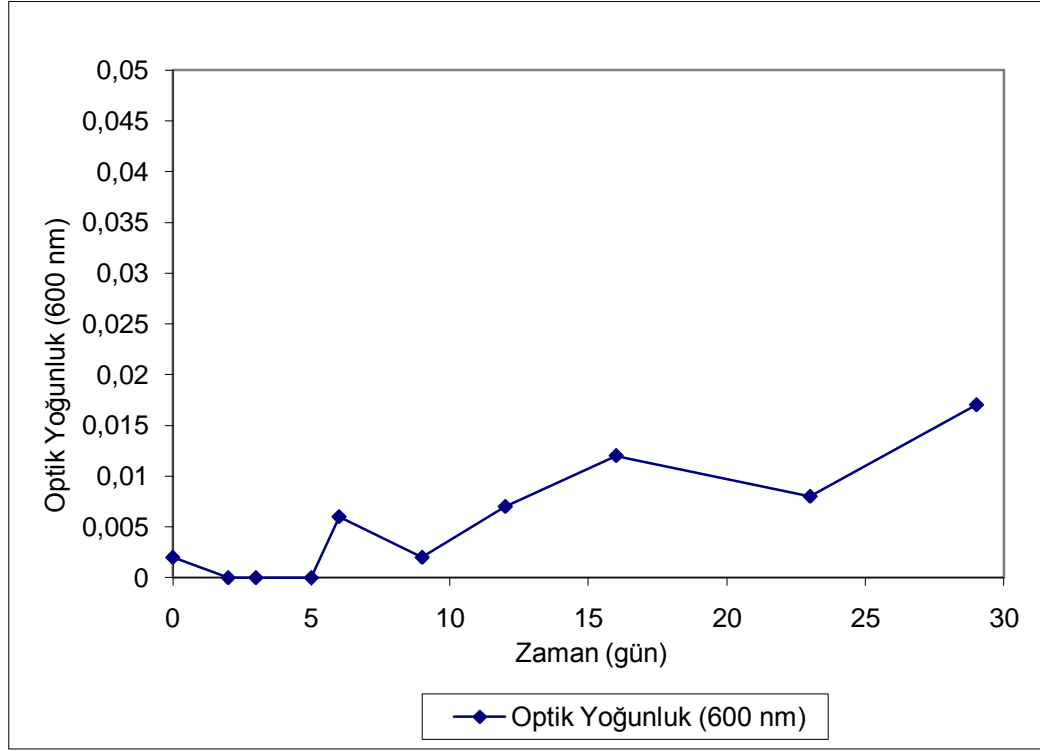
- Birinci grupta, karanlık ortamda 0,1 mg/L endosulfan konsantrasyonunda ve karışık mikroorganizma kültürünü içeren reaktöre ait büyüme grafiği, Şekil 6.5.'de verilmektedir. Grafikte mikroorganizma kültürünün 5 günlük adaptasyon fazı (lag fazı) olduğu görülmüştür. Ortama uyum sağlayan mikroorganizmalar 9. güne kadar  $0,0045 \text{ gün}^{-1}$  üreme hızı ile 0,02 optik yoğunluk değerine ulaşmıştır. Daha sonra 16. güne kadar durağan geçen ikinci bir fazdan sonra  $0,02 \text{ gün}^{-1}$  üreme hızı ile 29. günde 0,04 optik yoğunluk değerine ulaşmıştır.
- İkinci grupta, 0,1 mg/L endosulfan konsantrasyonunda, aydınlık ortamda karışık mikroorganizma kültürünün üreme davranışı incelenmiştir. Bu çalışmanın sonuçları, Şekil 6.6.'da verilmektedir. Mikrokozmda 5 günlük adaptasyon fazı (lag fazı) görülmüştür. Lag fazı sonrası mikroorganizmalar aşamalı olarak 16. güne kadar  $0,01 \text{ gün}^{-1}$  üreme hızında 0,02 optik yoğunluk değerine ulaşmıştır. 7 gün süren ikinci durgun evreden sonra 23. güne kadar büyüme evresine girdikten sonra 29. güne kadar  $0,01 \text{ gün}^{-1}$  üreme hızında 0,04 optik yoğunluk değerine ulaşmıştır.
- Şekil 6.7. ve Şekil 6.8.'de karışık mikroorganizma kültürü, endosulfanın yokluğunda önemli bir büyüme göstermemiştir.



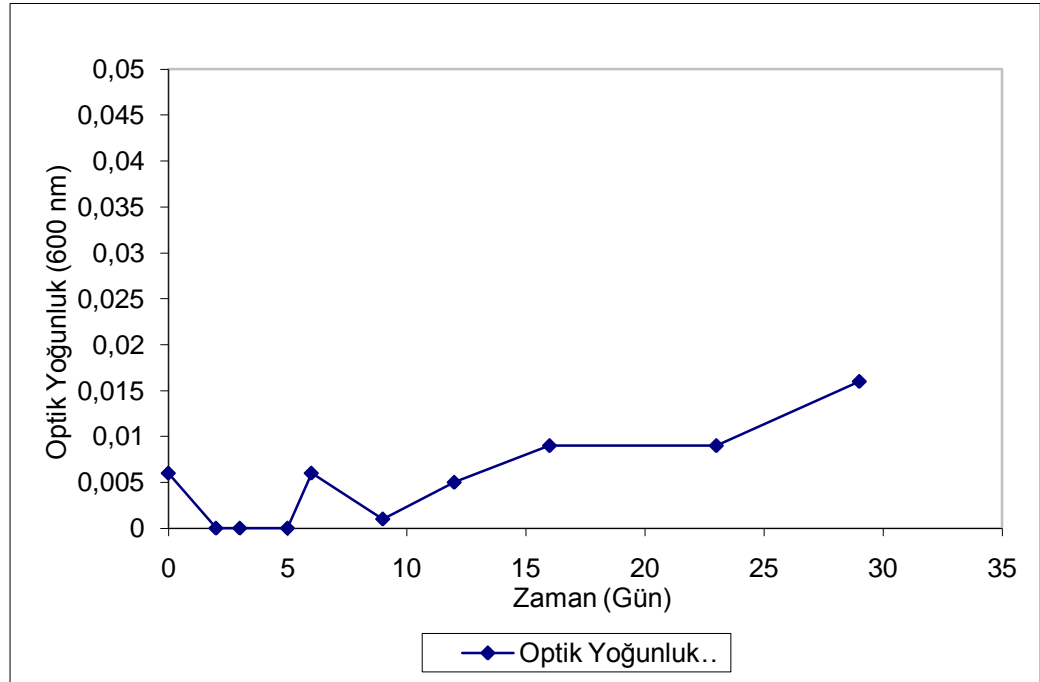
Şekil 6.5. Karanlık ortamda çalışılan (D-1) reaktör deneyi mikroorganizma büyüme grafiği.



Şekil 6.6. Aydınlik ortamda çalışılan (D-2) reaktör deneyi, mikroorganizma büyüme grafiği.



Şekil 6.7. Karanlık ortamda çalışılan (D-3) reaktör deneyi mikroorganizma büyüme grafiği.



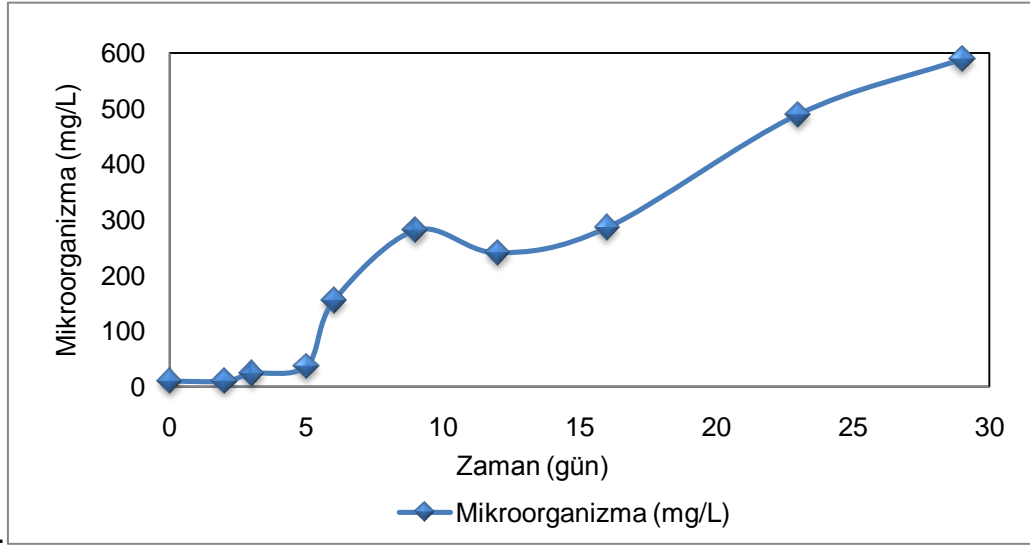
Şekil 6.8. Aydınlik ortamda çalışılan (D-4) reaktör deneyi mikroorganizma büyüme grafiği.

Endosulfanı biyolojik olarak parçalayan mikroorganizmaların birden fazla durgun dönem içeren ve farklı üreme hızlarından oluşan bir üreme eğrileri olduğu gözlenmiştir. Literatürde de endosulfanın parçalanması sırasında bu tip üreme eğrileri görülmektedir. Goswami vd. (2009) ve Goswami ve Singh, (2009) yaptıkları çalışmada mikroorganizma kültüründe endosulfanı karbon kaynağı olarak kullanmışlar ve optik yoğunluğun artmasının karbon ve enerji kaynağı olarak endosulfanın kullanıldığını göstermişlerdir. Sutherland vd (2002c), tarafından yapılan çalışmada toprak mikroorganizmalarının endosulfanı sülfür kaynağı olarak kullanarak parçaladığını belirtmişlerdir. Mikroorganizmanın sülfür kaynağı olmadan önemli bir büyüme göstermediğini, tek sülfür kaynağı olarak  $\alpha$ -endosulfan veya  $\beta$ -endosulfan eklendiğinde mikroorganizma kültürünün optik yoğunluğunun arttığını belirtmişlerdir. Ayrıca, mikroorganizmaların  $\alpha$ -endosulfan eklendiğinde daha hızlı,  $\beta$ -endosulfan eklendiğinde daha yavaş büyüdüğünü belirlemişlerdir. Sutherland (2002c) çalışmasında,  $\alpha$ -endosulfan yaklaşık 3 günlük bir adaptasyon fazından,  $\beta$ -endosulfan yaklaşık 6 günlük bir adaptasyon fazından sonra yaklaşık  $0,006 \text{ gün}^{-1}$  büyüme hızı ile  $OD_{595 \text{ nm}}$ 'de 0,4 değerine ulaşmaktadır. Bu tez çalışmasının sonuçları değerlendirildiğinde, endosulfanın farklı mekanizmalar ile parçalandığı ve süreçlerde farklı enzimler kullanıldığı düşünülmektedir. Literatürde de görülen çalışmalarda önce endosulfan izomerleri parçalanmaktadır; daha sonra bir durgunluk dönemi görülmesi yeni enzim oluşumuna duyulan ihtiyacı göstermektedir. Bu noktada ortamda endosulfan diol bulunmaktadır. Endosulfan diol biyolojik olarak parçalandıktan sonra farklı bir enzim gereği olarak, yeni bir durgun dönem görülmektedir. Böylece en az iki durgunluk dönemi içeren parçalanma süreci yaşandığı mikrobiyal üreme eğrilerinde de görülmektedir.

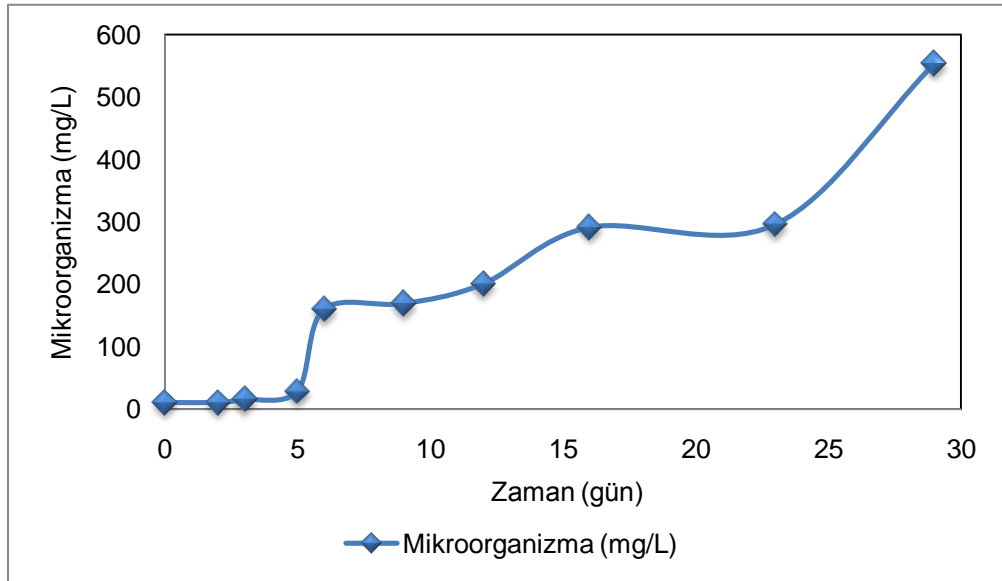
Mikroorganizma büyüme grafikleri elde etmek için optik yoğunluk (600 nm) değerine karşılık gelen mikroorganizma kütlesi TKM ve TUKM olarak ifade edilmiştir. Bu grafikten, optik yoğunluk değerine karşılık gelen

mikroorganizma miktarları her bir kesikli reaktör deneyi için çizilerek oluşan mikroorganizma miktarları hesaplanmıştır.

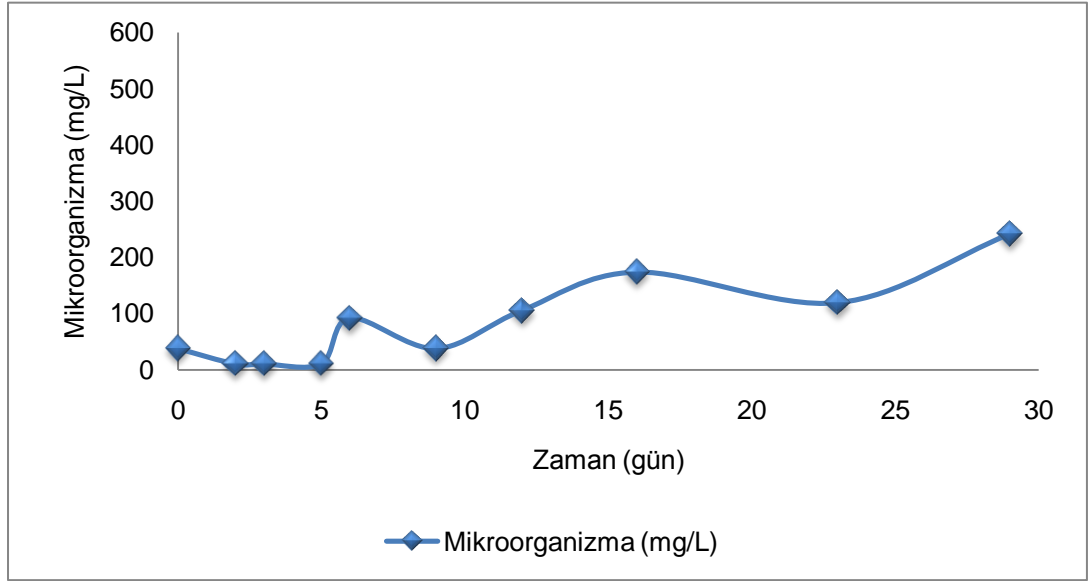
- Karanlık ortamda, 0,1 mg/L endosulfan içeren reaktör, Şekil 6.9.'da verilmektedir. Grafikte, 5 günlük adaptasyon fazında 39 mg/L, büyüme evresinde 9. güne kadar 300 mg/L mikroorganizma kütlesi oluşmaktadır. 9. günden 16. güne kadar devam eden ikinci durgun faz evresinden sonra tekrar üreme evresine geçen mikroorganizmalarda 29. Gün sonunda toplam 590 mg/L mikroorganizma kütlesi oluşmuştur.
- Aydınlik ortamda, endosulfan kirleticisinin içeren reaktör, Şekil 6.10.'da verilmektedir. Grafikte, 5 günlük adaptasyon fazında (lag fazı) 28 mg/L biyokütle oluşurken, ortama adapte olan mikroorganizmalar aşamalı olarak 16. güne kadar 290 mg/L ve 23. güne kadar 553 mg/L mikroorganizma kütlesi oluşmuştur.
- Endosulfan olmayan reaktörlerde, karanlık ortamda (Şekil 6.11.'de) 29. günde maksimum 241 mg/L, Şekil 6.12.'de karışık mikroorganizma kültürü endosulfanın yokluğunda aydınlık ortamda 29. günün sonunda maksimum 247 mg/L mikroorganizma kütlesi oluşmuştur.



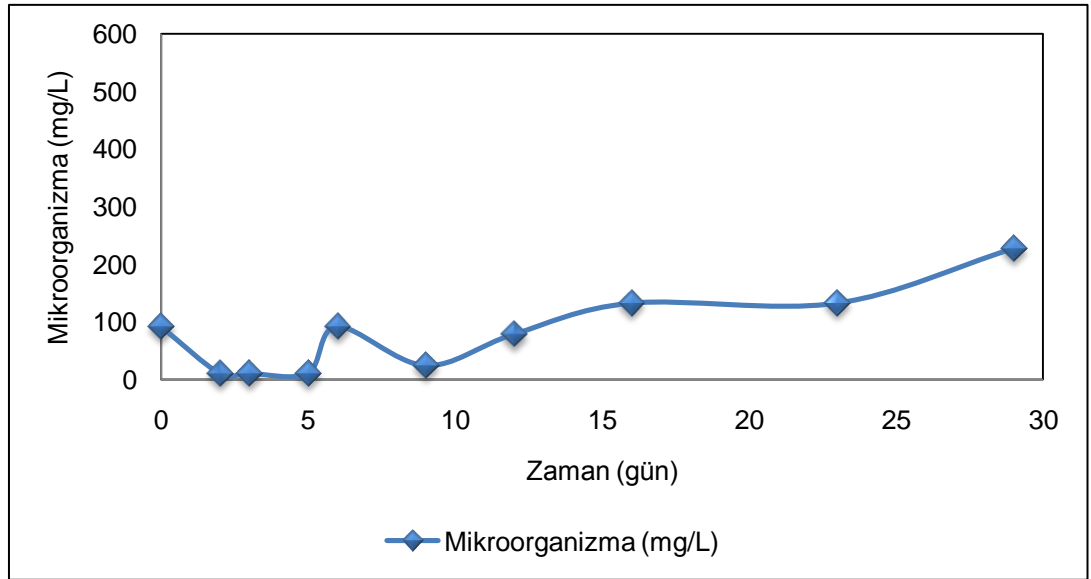
Şekil 6.9. Karanlık ortamda çalışılan (D-1) reaktör deneyi için oluşan mikroorganizma miktarı.



Şekil 6.10. Aydınlik ortamda çalışılan (D-2) reaktör deneyi için. oluşan mikroorganizma miktarı.



Şekil 6.11. Karanlık ortamda çalışılan (D-3) reaktör deneyi için mikroorganizma miktarı.

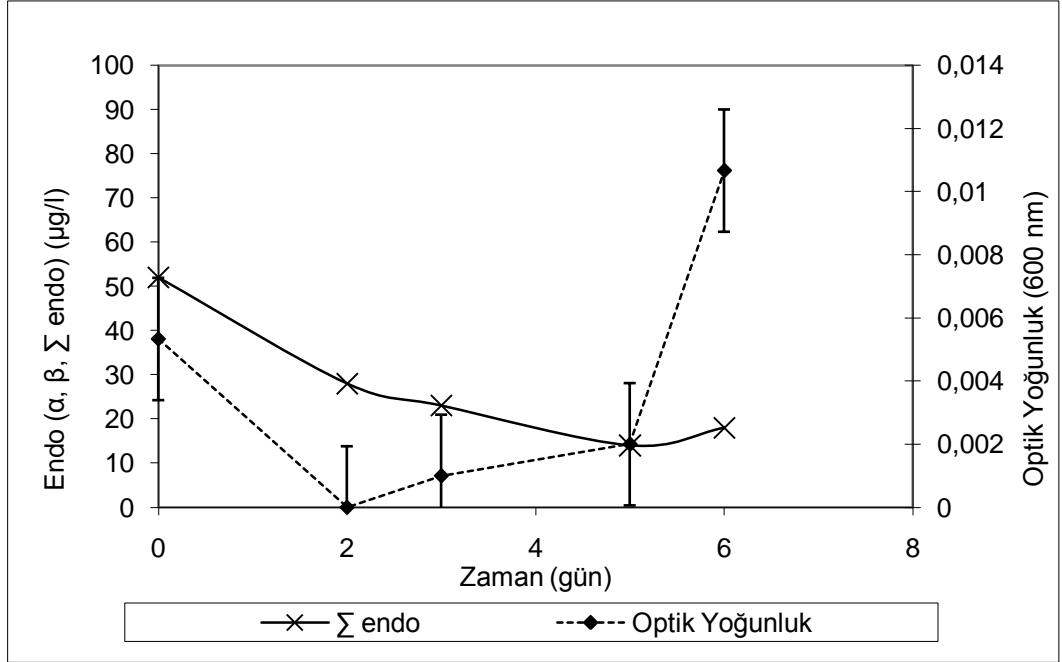


Şekil 6.12. Aydınlik ortamda çalışılan (D-4) reaktör deneyi için oluşan mikroorganizma miktarı.

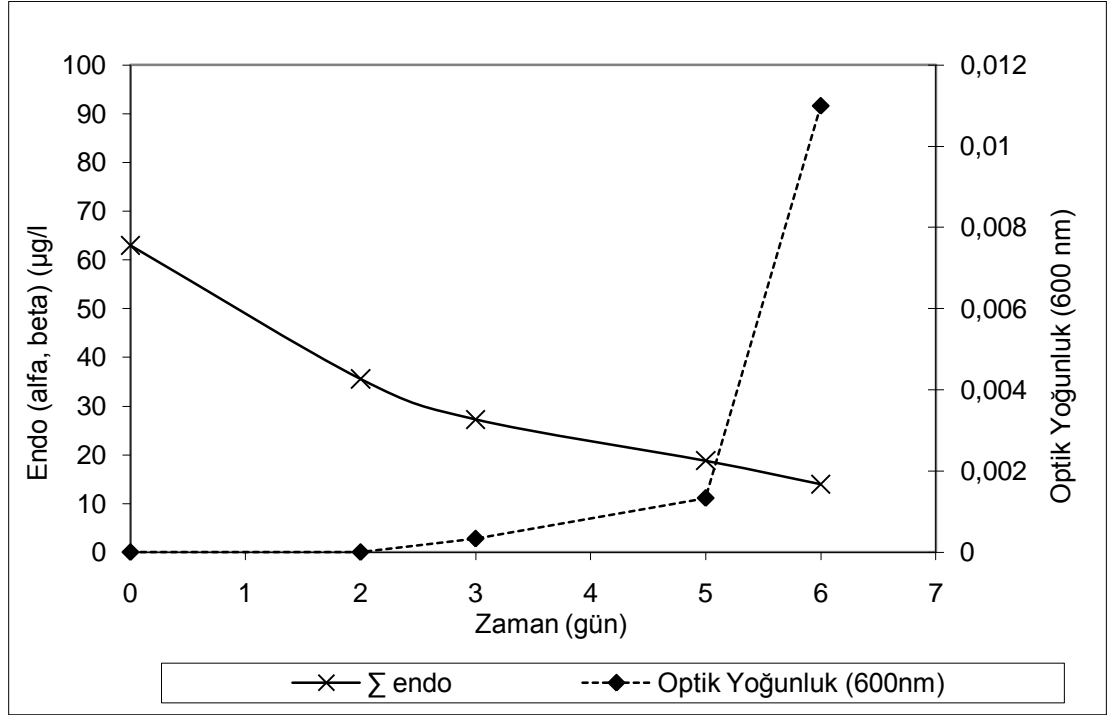
Deneylerde, her reaktör için endosulfan giderimleri hesaplanmıştır. Endosulfan giderim tablosu, Çizelge 6.4.'de verilmektedir. Grafiklerde, toplam endosulfan giderimi ile mikroorganizma büyüme grafiği birlikte verilmektedir. Alfa ve Beta endosulfan gideriminide gösteren grafikler Ek-5.'te verilmektedir.

Bu sonuçlar değerlendirildiğinde:

- Karanlık ortamda, zamana bağlı olarak çizilen optik yoğunluk grafiği, Şekil 6.13.'de verilmektedir. Grafikte, 6. günün sonunda  $\alpha$ -endosulfan %57,  $\beta$ -endosulfan %87, toplam endosulfan %65, biyolojik parçalanmaya uğradığı görülmektedir.
- Aydınlık ortamda, zamana bağlı endosulfan giderimini ve optik yoğunluğu gösteren grafik Şekil 6.14.'de verilmektedir. Grafikte, 6. günün sonunda  $\alpha$ -endosulfanın %64,  $\beta$ -endosulfanın %100 ve toplam endosulfanın %78 biyolojik parçalanmaya uğradığı hesaplanmıştır.



Şekil 6.13. Karanlık ortamda çalışılan (D-1) reaktör için toplam endosulfan parçalanması ile optik yoğunluk (600nm) grafiği.



Şekil 6.14. Aydınlık ortamda çalışılan (D-2) reaktör için toplam endosulfan parçalanması ile optik yoğunluk (600nm) grafiği.

Literatürde yapılan çalışmalarda, kesikli reaktör deneyinde endosulfan fotodegradasyonuna yönelik veri bulunmamaktadır. Ancak çeşitli araştırmalarda, pestisitlerin güneş ışığına maruz kaldıklarında fotodegradasyona uğradıkları ve fotodegradasyon yoluyla, HCl ve CO<sub>2</sub> 'ye parçalandığı çeşitli araştırmalarda rapor edilmiştir (Knoevenegal ve Himmelreich, 1976; Zertal 2005). Bazı araştırmalarda, toprak yüzeyinde endosulfanın fotodegradasyonunun önemli bir proses olmadığı belirtilmiştir (GFEA, 2004). Alfa ve beta endosulfanın fotodegradasyona karşı dirençli olduğu rapor edilmiştir (WHO, 1988). Bu çalışmada, fotodegradasyonun, alfa endosulfanın parçalanması üzerinde %8, beta endosulfanın parçalanması üzerinde %14, toplam endosulfanın parçalanmasında %12 etkisi olduğu hesaplanmıştır. Sonuçlar dikkate alınarak, ışığın endosulfan parçalanması üzerine etkisini ortadan kaldırmak için yapılan diğer deneyler karanlık ortam oluşturularak gerçekleştirilmiştir.

Çizelge.6.4. Işıklı ve Işıksız Ortamlarda Elde Edilen Endosulfan Giderim verimleri.

Zaman (Gün)	% Endosulfan Giderim					
	D-1 kesikli deneyi (Karanlık ortam)			D-2 kesikli deneyi (Aydınlık ortam)		
	α- endo	β-endo	Σ endo	α- endo	β-endo	Σ endo
0	0	0	0	0	0	0
2	43,2	53,3	46,2	32,1	61,9	43,5
3	56,8	53,3	55,8	48,3	70,3	56,7
5	64,9	66,7	65,4	60,3	86,1	70,2
6	56,8	86,7	65,4	64,1	100,0	77,8

### 6.2.3 Endosulfan Giderimi Kinetik Parametrelerinin Hesaplanması

Endosulfanın parçalanması sırasında elde edilen zamana bağlı giderimin hızını belirlemek için sıfır, bir ve ikinci derece giderim denklemlerine uygunluğu araştırılmıştır. Bu sonuçlara göre, endosulfanın biyolojik parçalanma sürecini tanımlayıcı en uygun giderim denklemi birinci dereceden bir denklem kullanılarak ifade edilebilmektedir. Parçalanma sabiti, birinci derecede giderim denklemi kullanılarak aşağıdaki şekilde hesaplanmıştır (Lee vd., 2006; Kwon, vd., 2005)

$$S = S_0 \cdot e^{-k_1 t} \quad (6.1)$$

$$k_1 = \ln \left[ \frac{S_0}{S} \right] / t \quad (6.2)$$

Burada;

$S_0$ =Başlangıç substrat konsantrasyonu

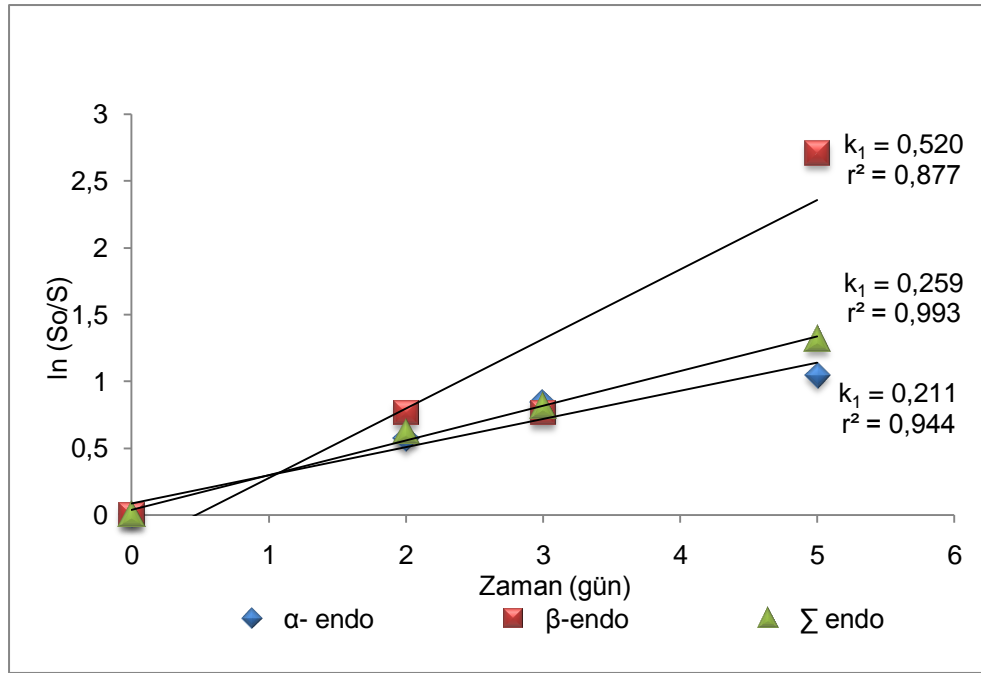
$S$  =Bitiş substrat konsantrasyonu

$k_1$  = Parçalanma sabiti ( $\text{gün}^{-1}$ )

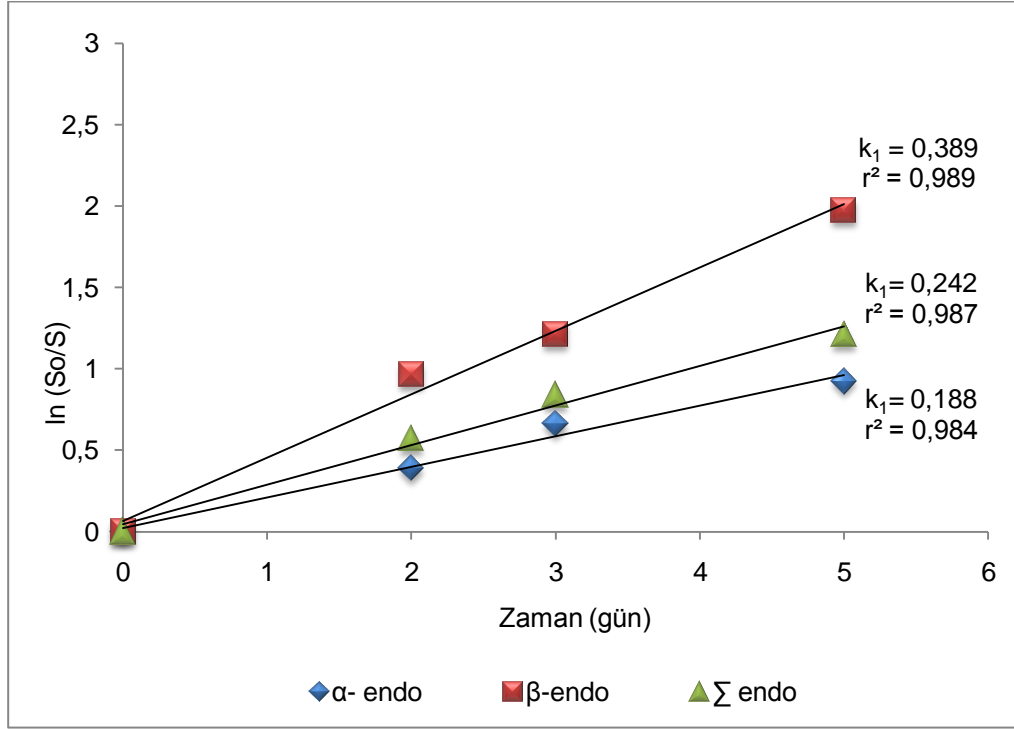
$t$  = Zaman (gün)

Karışık mikroorganizma kültürünün endosulfanı parçalama sabiti Denklem (6.2) kullanılarak hesaplanmıştır. Endosulfan parçalanma sabiti grafikleri aşağıda verilmektedir. Sonuçlar aşağıda değerlendirilmektedir;

- Karanlık ortamda çalışılan (D-1) kesikli reaktör deneyinde parçalanma sabiti grafiği Şekil 6.15.'de verilmektedir. Grafikten yapılan hesaplama sonucunda,  $\alpha$ -endosulfan parçalanma sabiti  $k_1=0,211$  ( $r^2=0,944$ ),  $\beta$ -endosulfan parçalanma sabiti  $k_1=0,520$  ( $r^2=0,877$ ) ve toplam endosulfan parçalanma sabiti  $k_1=0,259$  ( $r^2=0,993$ ) olarak hesaplanmıştır.
- Aydınlık ortamda çalışılan (D-2) kesikli reaktör deneyinde, parçalanma sabiti grafiği Şekil 6.16.'da verilmektedir. Grafikten yapılan hesaplama sonucunda,  $\alpha$ - endosulfan parçalanma sabiti  $k_1=0,188$  ( $r^2=0,984$ ),  $\beta$ -endosulfan parçalanma sabiti  $k_1=0,389$  ( $r^2=0,989$ ) ve toplam endosulfan parçalanma sabiti  $k_1=0,242$  ( $r^2=0,987$ ) olarak hesaplanmıştır.



Şekil 6.15. Karanlık ortamda çalışılan(D-1) reaktör deneyi endosulfan (alfa, beta) parçalanma sabiti.



Şekil 6.16. Aydınlik ortamda çalışılan (D-2) reaktör deneyi endosulfan (alfa, beta) parçalanma sabiti

Yukarıda verilen aydınlık ve karanlık ortamda endosulfan parçalanma sabiti değerleri, literatürde verilen çalışmalar ile karşılaştırması, Çizelge 6.5.'de verilmektedir. Çizelge 6.5.'de verildiği gibi, Lee vd. (2006)  $\alpha$ -endosulfan parçalanma sabitini  $0,182 \text{ gün}^{-1}$  ve  $\beta$ -endosulfan parçalanma sabitini  $0,30 \text{ gün}^{-1}$  olarak bulmuştur. Kumar vd. (2007)  $\alpha$ -endosulfan parçalanma sabitini  $0,0917 \text{ gün}^{-1}$  ve  $\beta$ - endosulfan parçalanma sabitini  $0,0958 \text{ gün}^{-1}$  olarak bulmuştur. Kwon vd. (2005)  $\alpha$ - endosulfan parçalanma sabitini  $0,3084 \text{ gün}^{-1}$  ve  $\beta$ - endosulfan parçalanma sabitini  $0,2983 \text{ gün}^{-1}$  olarak hesaplamışlardır. Bu verilere bakıldığında Kwon vd. (2005) çalışması dışında, diğer çalışmalarda  $\alpha$ -endosulfan parçalanma sabiti,  $\beta$ -endosulfan parçalanma sabitine göre daha küçüktür. Bu tez çalışmasında, literatürde verilen sonuçlara paralel giderim değerleri elde edilmiştir. Sonuçlar, alfa ve beta endosulfanın parçalanmalarında kullanılan enzimlerin farklı olabildiğini göstermektedir. Endosulfanın beta izomeri alfa izomerine göre daha kolay parçalanmaktadır ve bu farklı mikroorganizma grupları için genellenebilir.

Çizelge 6.5. Literatürde verilen endosulfan parçalanma sabitleri

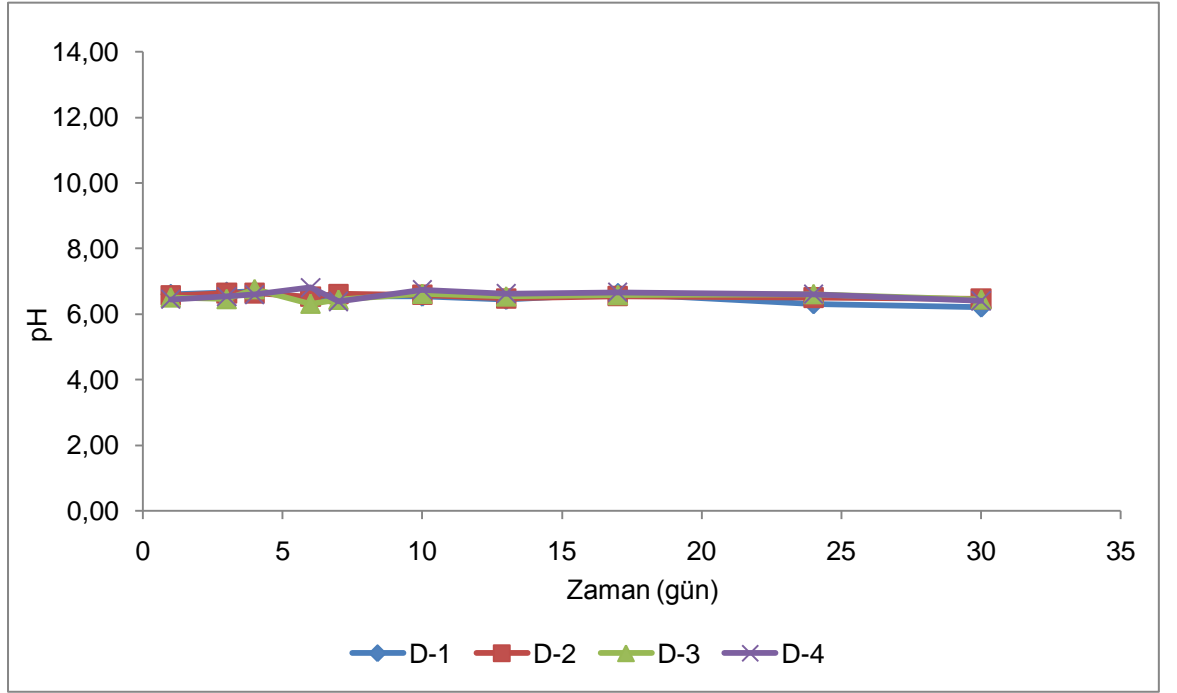
	$\alpha$ -endosulfan	$\beta$ - endosulfan	Toplam endosulfan
Kumar vd., 2007			
$r^2$	0,9947	0,8813	
$k_1$ (gün <sup>-1</sup> )	0,0917	0,0958	
Lee vd, 2006			
$r^2$	0,998	0,956	
$k_1$	0,182	0,30	
Kwon vd, 2005			
$r^2$	0,99	0,962	
$k_1$ (gün <sup>-1</sup> )	0,3084	0,2983	
D-1 kesikli deneyi (Bu çalışma)			
$r^2$	0,94	0,87	0,99
$k_1$ (gün <sup>-1</sup> )	0,21	0,52	0,26
D-2 kesikli deneyi (Bu çalışma)			
$r^2$	0,98	0,99	0,99
$k_1$ (gün <sup>-1</sup> )	0,18	0,39	0,24

#### 6.2.4 Endosulfanın Biyolojik Parçalanmasında pH ve Ek Karbon Kaynağının Etkisi

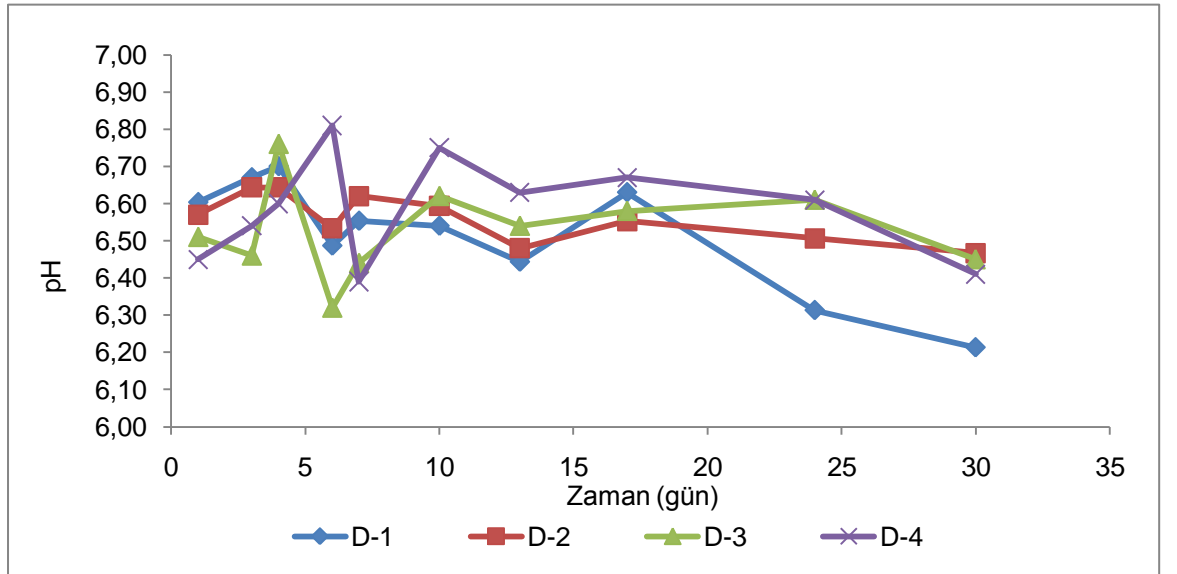
Deneysel çalışmalarda, endosulfan analizi için örnek alındığı her aşamada pH ölçümleri yapılmıştır. Aşağıda verilen grafikte de görüldüğü gibi (Şekil 6.17) endosulfan parçalanırken ortam pH'ında önemi bir değişiklik olmamıştır. pH ölçüm sonuçları Çizelge 6.6.'da ve grafiksel gösterimi Şekil 6.17.'de, grafiğin daha anlaşılır olması için pH=6-7 aralığında, Şekil 6.18.'de verilmektedir.

Çizelge 6.6. Kesikli reaktörlerde ölçülen pH değerleri

Zaman (gün)	D-1	D-2	D-3	D-4
1	6,60	6,57	6,51	6,45
3	6,67	6,64	6,46	6,54
4	6,70	6,64	6,76	6,6
6	6,49	6,53	6,32	6,81
7	6,55	6,62	6,44	6,39
10	6,54	6,59	6,62	6,75
13	6,44	6,48	6,54	6,63
17	6,63	6,55	6,58	6,67
24	6,31	6,51	6,61	6,61
30	6,21	6,47	6,45	6,41



Şekil 6.17. Set-1 kesikli reaktörlerde pH=0-14 aralığında, pHdeğişimi.



Şekil 6.18. Set-1 kesikli reaktörlerde pH=6-7 aralığında, pHdeğişimi.

Sutherland vd. (2002c), tarafından yapılan çalışmada mikrobiyal büyüme sürecinde pH'nın etkisi belirlenmemiştir. Ancak yüksek pH'nın biyolojik

parçalanmaya olumlu etkisi olduğunu belirten çalışmalarda vardır (Sutherland vd., 2002c).

Literatürde yapılan araştırmalarda, endosulfanın karbon ve sülfür kaynağı olarak, mikroorganizmalar tarafından kullanıldığını belirtmişlerdir (Guerin, 1999; Siddique vd. 2003). Sutherland vd. (2000) endosulfanın mikroorganizmalar tarafından sülfür kaynağı olarak kullanılmasının başarılı sonuç verdiği belirtmişlerdir. Elsaid vd. (2010) endosulfanın mikroorganizmalar tarafından karbon kaynağı olarak kullanıldığını belirtmişlerdir. Goswami ve Singh (2009), yaptıkları çalışmada endosulfanı karbon kaynağı olarak kullanmışlar ve optik yoğunluğun artmasını endosulfanın karbon ve enerji kaynağı olarak kullanılmasının bir göstergesi olarak rapor etmişlerdir.

Bu tez kapsamında yapılan çalışmalarda, literatür bilgileri de dikkate alınarak, endosulfanın bakteri tarafından sülfür ve karbon kaynağı olarak kullanılması amaçlanmıştır. Bu nedenle mineral besi ortamında sülfürsüz ve karbonsuz bileşikler kullanılmıştır. Ayrıca ek karbon kaynağı (glikoz) eklenmesi ve pH değişiminin endosulfan giderimine etkisi belirlenmiştir. Deney şartları, Çizelge 6.7.'de verilmektedir.

Çizelge 6.7. Endosulfanın parçalanması deney koşulları

Deney Grupları	Deney şartları	Mineral Solüsyon	Mikroorganizma	Endosulfan	pH	Ek karbon kaynağı	Işık
Grup 1	Kesikli	var	Var	0,1 mg/l	6,5±1	yok	yok
Grup 2	Kesikli	var	Var	0,1 mg/l	8,4±1	yok	yok
Grup 3	Kesikli	var	Var	0,1 mg/l	6,5±1	Glikoz 4mg/L	yok
Grup 4	Kesikli	var	Var	0,1 mg/l	8,4±1	Glikoz 4 mg/L	yok

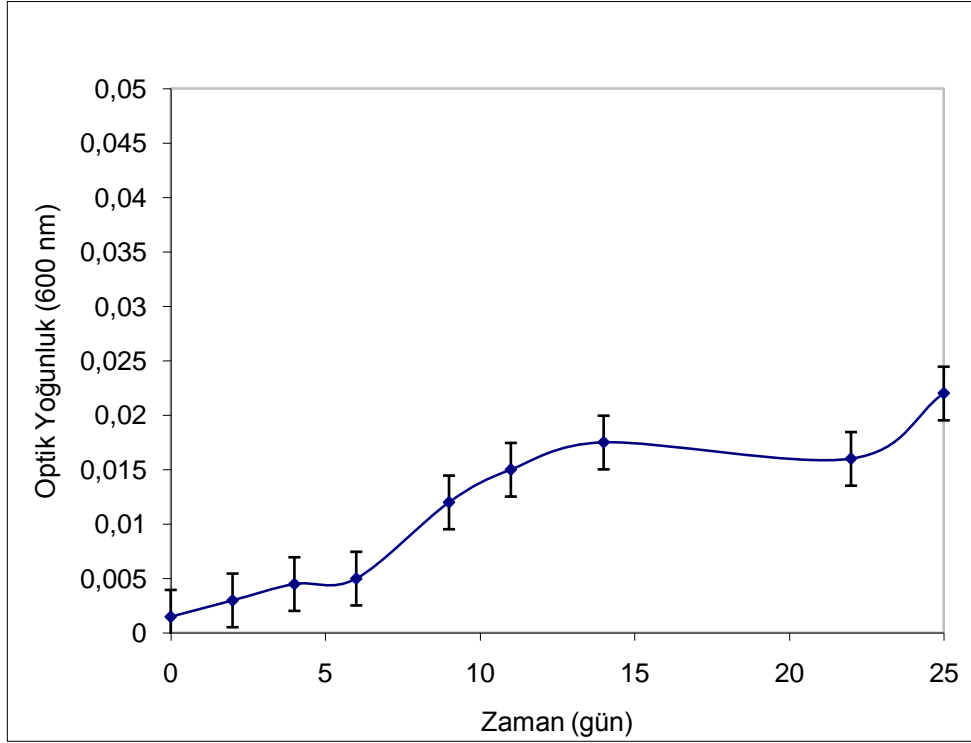
Deney çalışma koşulları, Çizelge 6.7.'de verilen kesikli reaktör deneyleri ile karışık mikroorganizma kültürünün büyüme hızları ve endosulfan parçalama verimlilikleri belirlenmiştir. Deney sonuçları, aşağıda başlıklar halinde verilmektedir.

### 6.2.5 Karışık Mikroorganizma Kültürünün Üreme Süreci

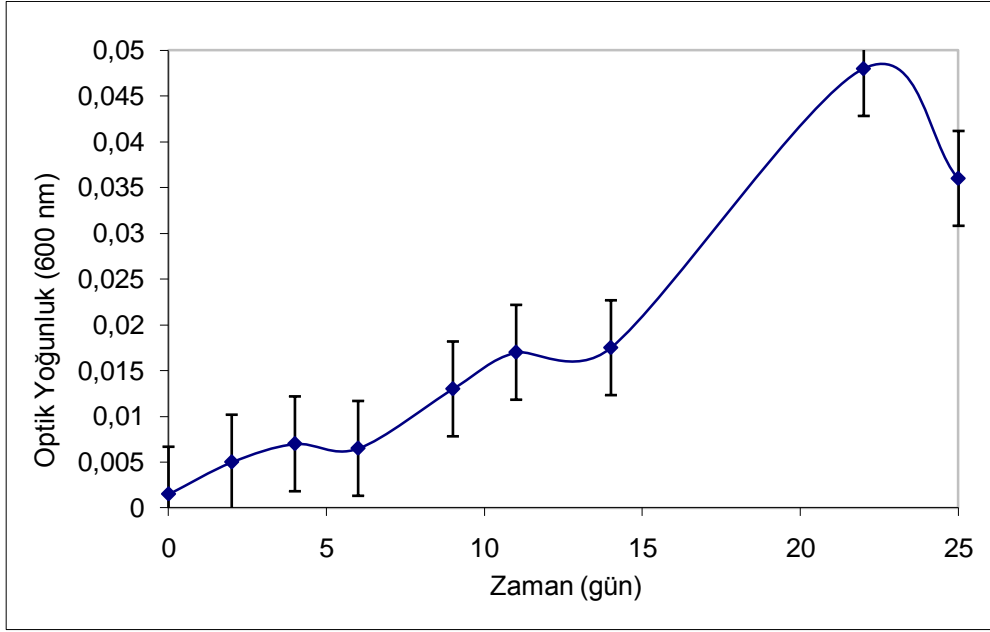
DeneySEL çalışmalarında kültür zenginleştirme tekniği ile topraktan izole edilen bakteri kültürünün ek karbon kaynağı glikoz eklendiğinde ve pH alkali ortamda mikroorganizmaların büyüme grafikleri çizilmiştir. Grafikler ve sonuçları aşağıda verilmektedir.

- Birinci grup deney çalışmasında, mikroorganizma kültürü ve endosulfanın varlığında pH=6,5±0,1 ortam koşullarında çizilen mikroorganizma büyüme grafiği, Şekil 6.19.'da verilmektedir. Grafikte de görüldüğü gibi lag fazı yoktur. Fakat aşamalı bir büyüme gözlenmiştir. Birinci büyüme eğrisinde 4. güne kadar 0,0008 gün<sup>-1</sup> büyüme hızı ile 0,0045 optik yoğunluk değerine ulaşmıştır. 1 günlük durgun fazdan sonra 0,002 gün<sup>-1</sup> üreme hızı ile 14.günde 0,0175 optik yoğunluk değerine ulaşmıştır.
- İkinci grup deney çalışmasında, mikroorganizma kültürü, endosulfan ve pH=8,4 ± 0,1 ortam koşullarında çizilen mikroorganizma büyüme grafiği, Şekil 6.20.'de verilmektedir. Grafikte de görüldüğü gibi lag fazı yoktur. Birinci büyüme eğrisinde 4. güne kadar 0,001 gün<sup>-1</sup> büyüme hızı ile 0,007 optik yoğunluk değerine ulaşmıştır. 1 günlük durgun fazdan sonra 0,002 gün<sup>-1</sup> üreme hızı ile 11.günde 0,017 optik yoğunluk değerine ulaşmıştır. 3 gün süren durgun fazdan sonra 0,004 gün<sup>-1</sup> 22. gün 0,048 optik yoğunluk değeri ölçülmüştür.
- Üçüncü grup deney çalışmasında, mikroorganizma kültürü, endosulfan ve ek karbon kaynağı olarak glikoz eklendiğinde, pH=6,5±0,1 ortam koşullarında çizilen mikroorganizma büyüme grafiği, Şekil 6.21.'de verilmektedir. Grafikte görüldüğü gibi, lag fazı yoktur. Mikroorganizmalar ortama hemen adaptasyon sağlayarak 0,003 gün<sup>-1</sup> büyüme hızı ile 11 günde 0,0315 optik yoğunluk değerine ulaşmıştır.
- Dördüncü grup deney çalışmasında, mikroorganizma kültürü, endosulfan ve ek karbon kaynağı olarak glikoz eklendiğinde, pH=8,4±0,1 ortam koşullarında çizilen mikroorganizma büyüme grafiği, Şekil Şekil 6.22.'de verilmektedir. Grafikte görüldüğü gibi, lag fazı görülmemiştir.

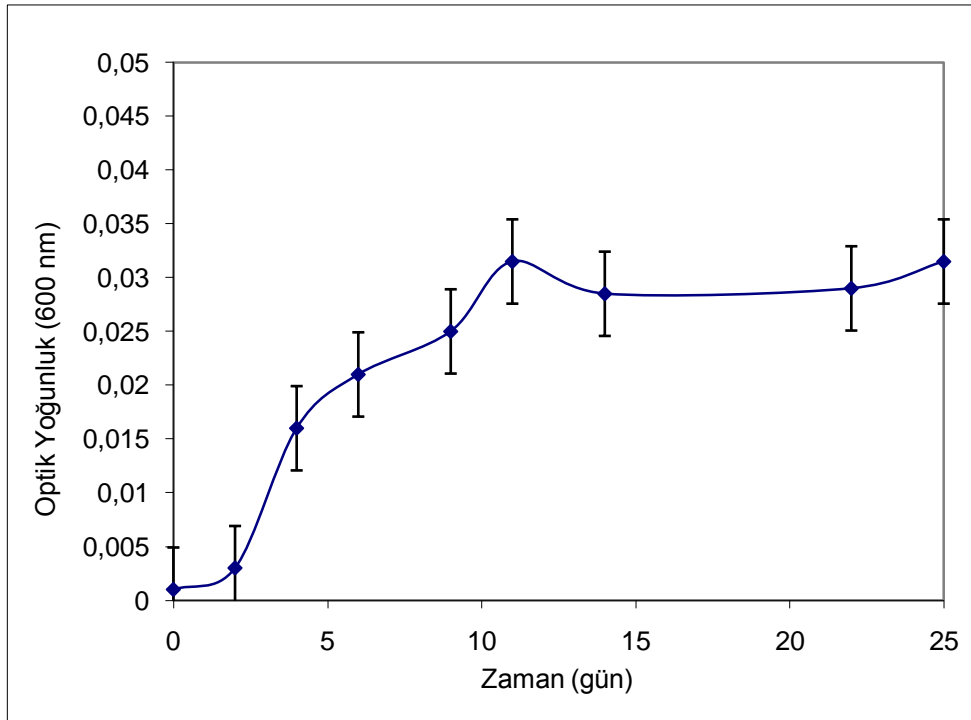
Mikroorganizmalar ortama hemen adaptasyon sağlayarak  $0,003 \text{ gün}^{-1}$  büyüme hızı ile 11 günde 0,0345 optik yoğunluk değerine ulaşmıştır. 3 günlük durgun fazdan sonra aynı büyüme hızı ile 22. gün de 0,05 optik yoğunluk değeri hesaplanmıştır.



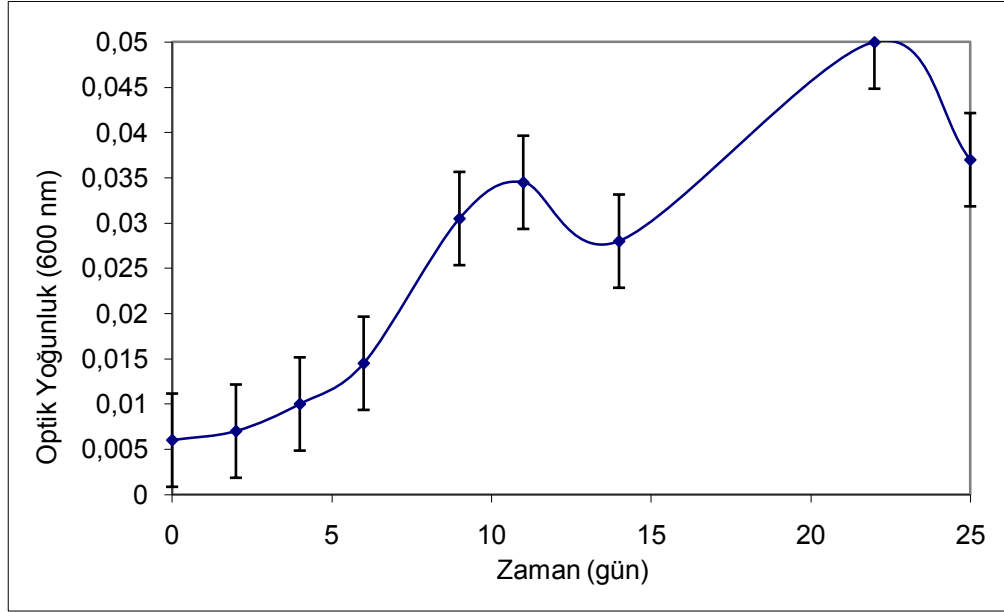
Şekil 6.19. Grup 1 için mikroorganizma + besin + 0,1 mg/L endosulfan pH=6,5±0,1 olan ortamda mikroorganizma büyüme grafiği.



Şekil 6.20.Grup 2 için mikroorganizma + besin + 0,1 mg/L endosulfan pH=8,4±0,1 olan ortamda mikroorganizma büyüme grafiği.



Şekil 6.21.Grup 3 için mikroorganizma + besin + 0,1 mg/L endosulfan + 4 mgL glikoz pH= 6,5±0,1 olan ortamda mikroorganizma büyüme grafiği.



Şekil 6.22. Grup 4 için mikroorganizma + besin + 0,1 mg/L endosulfan + 4mg/L glikoz pH= 8,4±0,1 olan ortamda mikroorganizma büyüme grafiği.

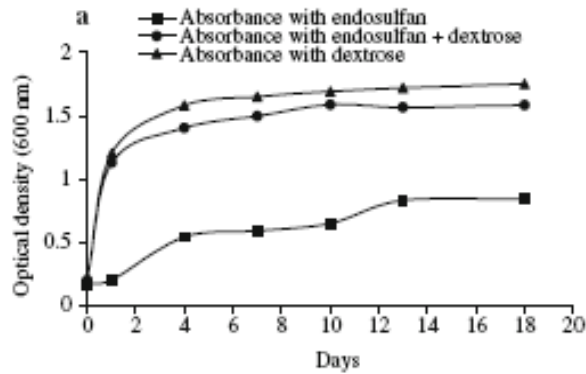
Yukarıda verilen grafiklerden hesaplanan mikroorganizmaların büyüme hızları, Çizelge 6.8.'de verilmektedir. Çizelge 6.8.'e göre mikroorganizmaların üreme hızlarının düşük olduğu görülmektedir.

Çizelge 6.8. Mikroorganizma büyüme hızları.

	$V_1$ (gün <sup>-1</sup> )	$V_2$ (gün <sup>-1</sup> )	$V_3$ (gün <sup>-1</sup> )
Grup-1	0,0008	0,002	
Grup-2	0,001	0,002	0,048
Grup-3	0,003		
Grup-4	0,003	0,003	

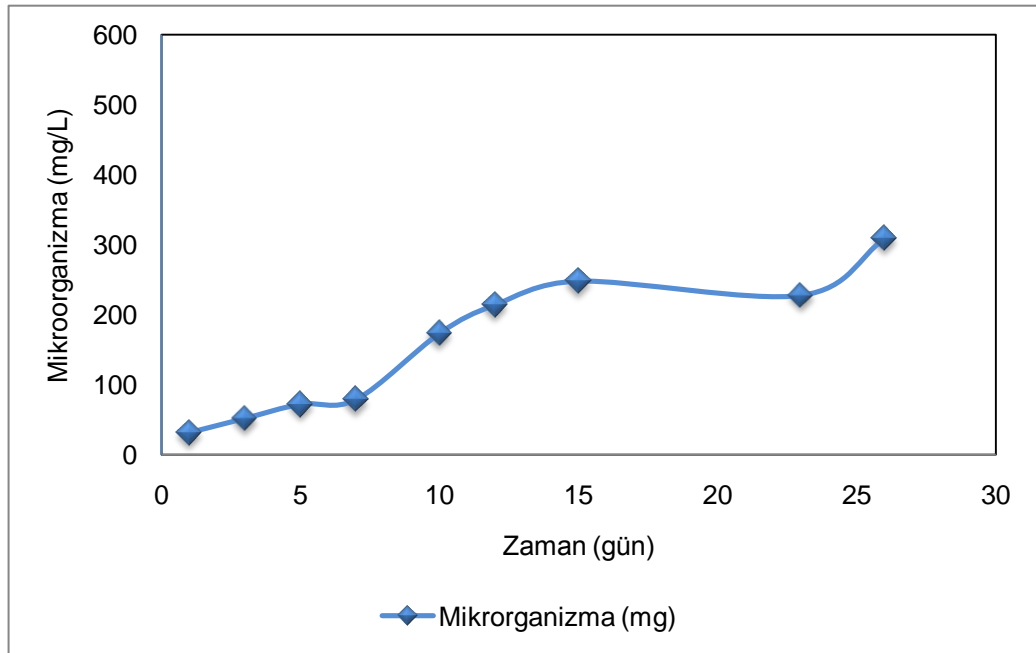
Kesikli deneylerde, optik yoğunluğun artması endosulfanın mikroorganizmalar tarafından kullanıldığını göstermektedir. Mikroorganizmalar aşamalı olarak büyümüşlerdir. Bu durum endosulfanın aşamalı olarak parçalandığını göstermektedir. Sınırlı sayıda yapılmış olan endosulfanın metabolik parçalanma çalışmasında da tez bulgularına paralel gözlemler yapılmıştır. Tez çalışmasında kullanılan deney düzenekleri

endosulfan diol oluşumuna neden olacak şekilde tasarlanmıştır. Diğer çalışmalarda mikroorganizma büyüme hızları verilmemekle birlikte mikroorganizma gelişim eğrisi ile endosulfan giderimi grafikleri çizilmiştir. Ortama glikoz ek karbon kaynağı olarak eklendiğinde lag fazı görülmemiştir. Mikroorganizmaların glikozu öncelikli karbon ve enerji kaynağı olarak kullandıkları düşünülmektedir. Literatürde endosulfanın biyolojik parçalanması için kullanılan mikroorganizmaların büyüme hızları rapor edilmemiştir. Goswami ve Singh (2009) tarafından yapılan çalışmada endosulfanın parçalanması için ortama ek karbon kaynağı olarak dekstroz ekleyerek endosulfanın parçalanabilirliğini araştırmışlar. Gram negatif bakteri olan *Bordetella sp.* B9 türü tek karbon kaynağı endosulfanın var olduğu ortamda 1 gün lag fazı gözlemişler. 0,1 gün<sup>-1</sup> büyüme hızı ile 4 günlük bir büyüme evresi gözlenmiş ve 4 günlük durgun fazdan sonra 0,06 gün<sup>-1</sup> büyüme hızı ile 13. güne kadar üreme devam etmiş ve daha sonra tekrar durgun faz dönemine geçmiştir. Ek karbon kaynağı olarak endosulfana ilave olarak dekstroz eklendiği ve dekstroz kullanılan ortamda lag fazı oluşmamış, yaklaşık 1,06 gün<sup>-1</sup> üreme hızı ile 2 gün de üreme fazını tamamlayarak durgun evreye geçmiştir. *Bordetella sp.* B9 türünün büyüme kinetiği grafiği, Şekil 6.23'de verilmektedir.

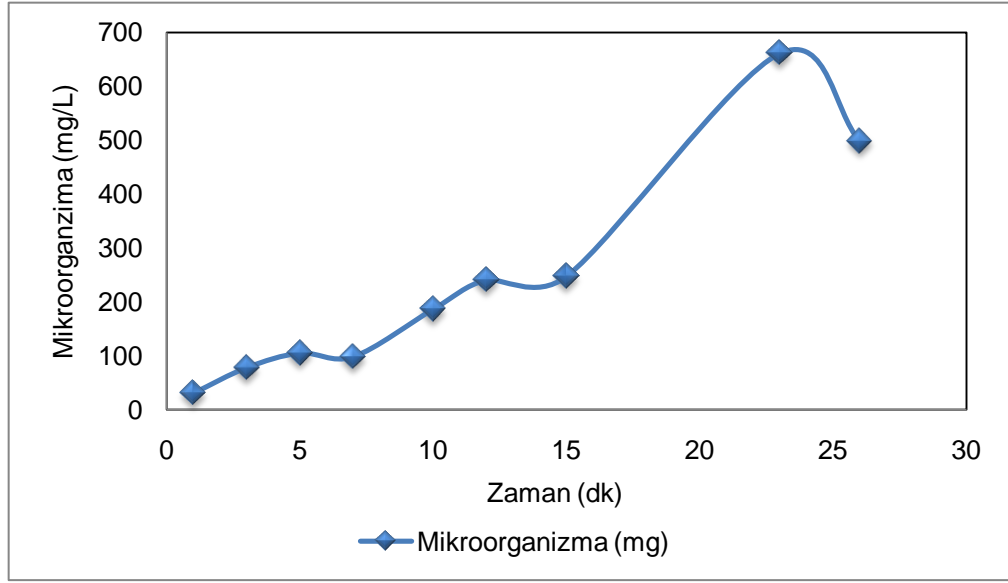


Şekil 6.23. *Bordetella sp.* B9 türünün büyüme kinetiği (Goswami ve Singh, 2009).

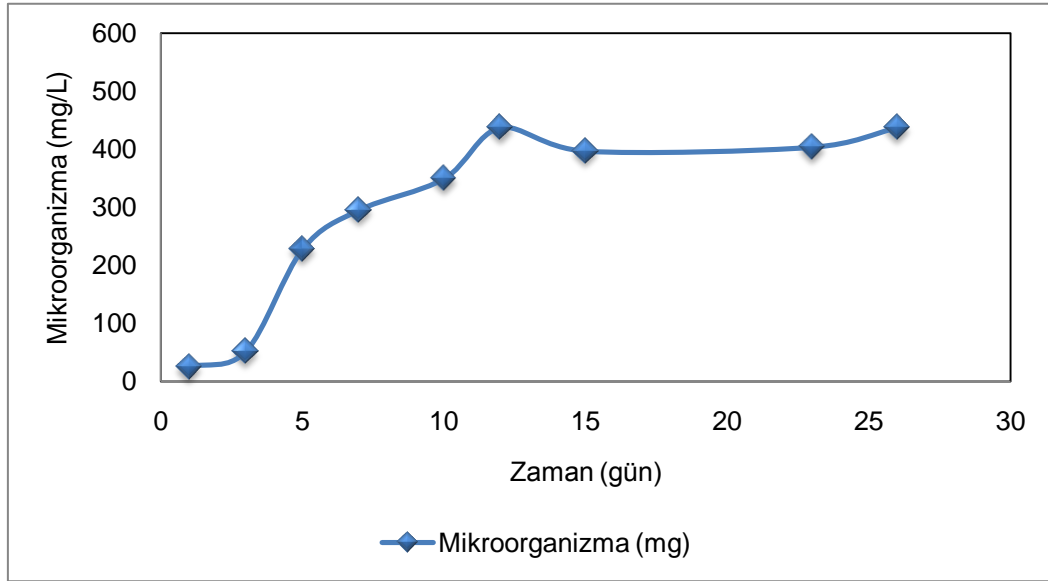
Endosulfan giderimine bağılı olarak her bir reaktörde oluşan mikroorganizma miktarları Şekil 6.24, Şekil 6.25, Şekil 6.26 ve Şekil 6.27.'de verilmektedir. Kesikli reaktörlerde Şekil 6.24.'de, 0,1 mg/L endosulfan, besin ve pH=6,5 olduğu ortamda maksimum oluşan mikroorganizma miktarı 248 mg/L olarak hesaplanmıştır. Şekil 6.25.'de, 0,1 mg/L endosulfan, besin ve pH=8,4 olduğu ortamda maksimum oluşan mikroorganizma miktarı 660 mg/L olarak hesaplanmıştır. Şekil 6.26.'de, 0,1 mg/L endosulfan, 4 mg/L glikoz, besin ve pH=6,5 olduğu ortamda maksimum oluşan mikroorganizma miktarı 438 mg/L olarak hesaplanmıştır. Şekil 6.27.'de, 0,1 mg/L endosulfan, 4 mg/L glikoz, besin ve pH=8,4 olduğu ortamda maksimum oluşan mikroorganizma miktarı 688 mg/L olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlara göre, ortamın pH'sı ve glikozun eklenmesi mikroorganizmaların büyüme koşullarında etkili olduğu ortaya çıkmaktadır.



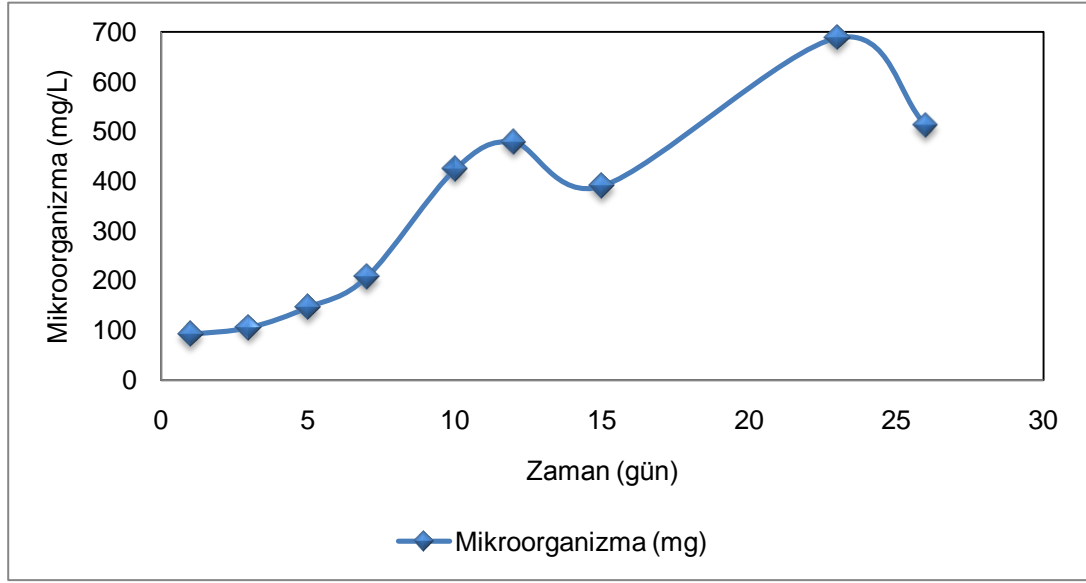
Şekil 6.24. Grup-1 kesikli reaktör deneyi için (mikroorganizma + besin + 0,1mg/L endosulfan pH= 6,5±0,1 oluşan mikroorganizma miktarı.



Şekil 6.25. Grup-2 kesikli reaktör deneyi için (mikroorganizma+besin +0,1 mg/L endosulfan pH=8,4±0,1) oluşan mikroorganizma miktarı.

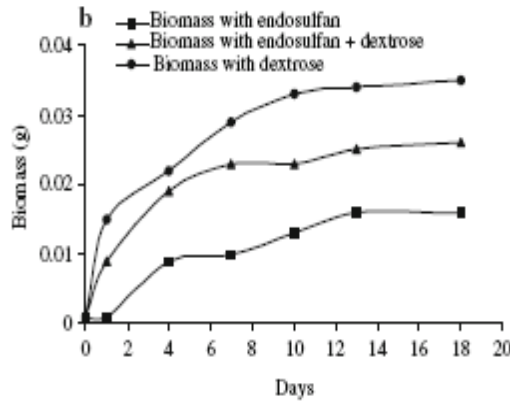


Şekil 6.26. Grup-3 kesikli reaktör deneyi için (mikroorganizma + besin + 0,1 mg/L endosulfan + 4 mg/L glikoz pH=6,5±0,1) oluşan mikroorganizma miktarı.



Şekil 6.27. Grup-4 kesikli reaktör deneyi için (mikroorganizma + besin + 0,1 mg/L endosulfan + 4 mg/L glikoz pH=8,4±0,1) oluşan mikroorganizma miktarı.

Literatürde, gram negatif bakteri türü olan *Bordetella sp. B9* bakteri türüyle yapılan çalışmada endosulfan olan ortamda aşamalı büyüme evresi ve 2 gün lag fazı gözlenirken, ortama karbon kaynağı olarak dekstroz eklendiğinde ve sadece karbon kaynağının olduğu ortamda lag fazı olmadığını rapor etmişlerdir (Goswami ve Singh, 2009). *Bordetella sp. B9* türü ile oluşan mikroorganizma miktarı, Şekil 6.28.'de verilmektedir.



Şekil 6.28. *Bordetella sp. B9* türü ile oluşan mikroorganizma miktarı (Goswami ve Singh, 2009).

Gram negatif bakteri türü olan *Aspergillus sydoni* bakteri türüyle yapılan çalışmada, endosulfan olan ortamda aşamalı büyüme evresi ve 3 gün lag fazı gözlenirken, ortama karbon kaynağı olarak sukroz eklendiğinde ve sadece karbon kaynağının olduğu ortamda lag fazı olmadığını rapor etmişlerdir (Goswami vd., 2009). *Aspergillus sydoni* türü ile oluşan mikroorganizma miktarı, Şekil 6.29.'da verilmektedir.

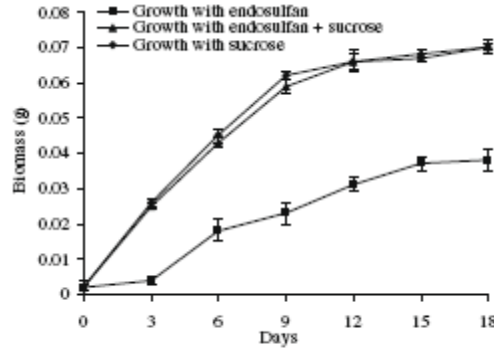


Fig. 2. Growth kinetics of *Aspergillus sydoni* in broth culture.

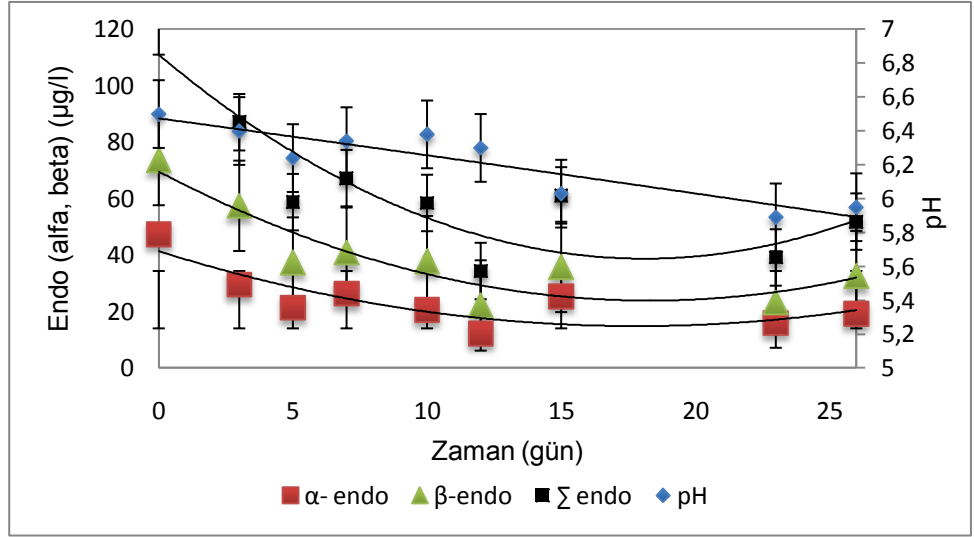
Şekil 6.29. *Aspergillus sydoni* türü ile oluşan mikroorganizma miktarı (Goswami vd, 2009).

### 6.2.6 Endosulfan Biyolojik Olarak Parçalanması

Deneylerde her bir reaktör için endosulfan giderimleri hesaplanmıştır. Endosulfan giderim tablosu, Çizelge 6.9.'da verilmektedir. Grafikler, toplam endosulfan giderimi ile mikroorganizma büyüme grafiği birlikte verilmektedir. Çalışma sonuçları aşağıdaki verilmektedir.

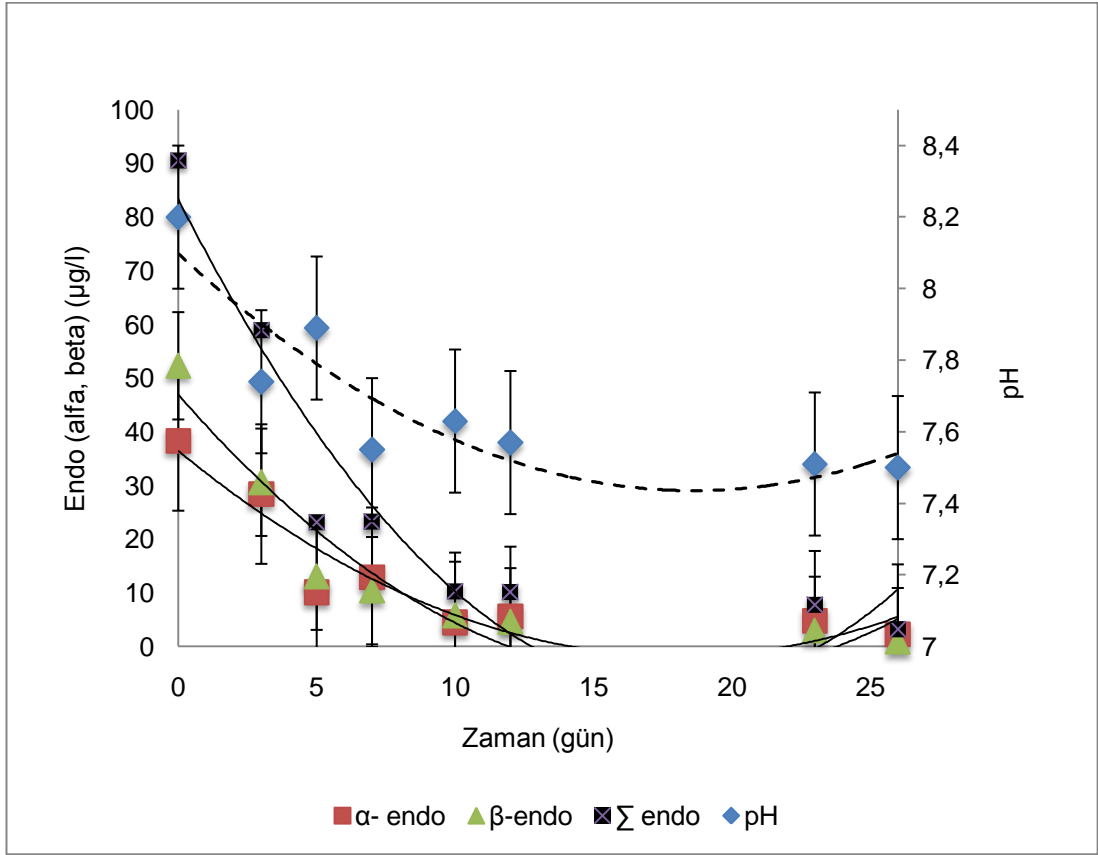
- Birinci grup deney çalışmasında, karışık mikroorganizma kültürü ve 0,1 mg/L endosulfanın varlığında pH=6,5±0,1 ortam koşullarında pH'a bağlı endosulfan giderim grafiği, Şekil 6.30.'da verilmektedir. Grafikte de görüldüğü gibi, 2 günde pH= 6,4±0,1 değerine düşerek ve  $\alpha$ - endosulfan %37 ve  $\beta$ -endosulfan %22 ve toplam endosulfanın %28'i parçalanmaktadır. 9. günde pH=6,38±0,1 değerinde  $\alpha$ - endosulfan %56 ve  $\beta$ -endosulfan %49 ve toplam endosulfanın %52'si parçalanmaktadır.

9. günden sonra endosulfanın parçalanması yavaşlamış ve 26. günde pH=5,95±0,1 değerine düşerek α-endosulfan %61, β-endosulfan %57 ve toplam endosulfan %59 oranında parçalanmıştır. Endosulfanın parçalanmasına bağlı olarak pH değeri de düşmektedir.



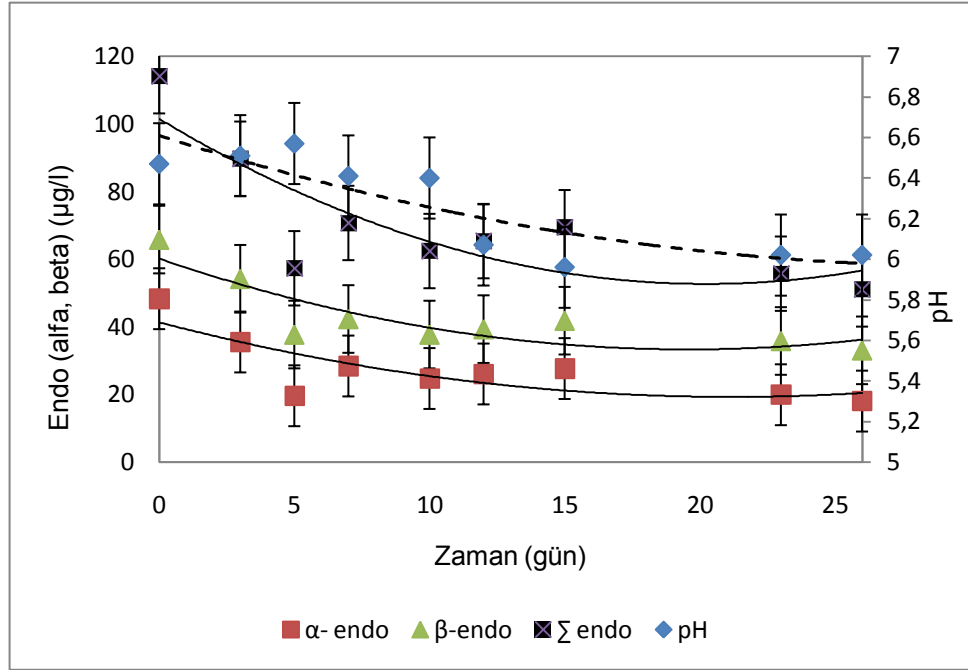
Şekil 6.30. Grup-1 için mikroorganizma+besin+0,1mg/L endosulfan pH=6,5±0,1 olan ortamda mikroorganizma büyüme grafiği ve pH.

İkinci grup deney çalışmasında, mikroorganizma kültürü ve 0,1 mg/L endosulfanın varlığında pH=8,4±0,1 ortam koşullarında pH'a bağlı endosulfan giderim grafiği, Şekil 6.31.'de verilmektedir. Grafikte de görüldüğü gibi dört günde pH=7,84±0,1 değerine düşerek, α-endosulfan %49 ve β-endosulfanın %66 ve toplam endosulfan %58 oranında parçalanmaktadır. 6. günde pH=7,56±0,1 değerine düşerek, α-endosulfan %70, β-endosulfan %81 ve toplam endosulfan %77 oranında parçalanmaktadır. 6. günden sonra endosulfanın parçalanması ve ayrıca pH değerindeki azalma yavaşlamıştır ve 26. günde pH=7,44±0,1 değerine düşerek α-endosulfan için %96, β-endosulfan için %97 ve toplam endosulfan %97 oranında parçalanmıştır. Endosulfanın parçalanmasına bağlı olarak pH değeri de düşmektedir.



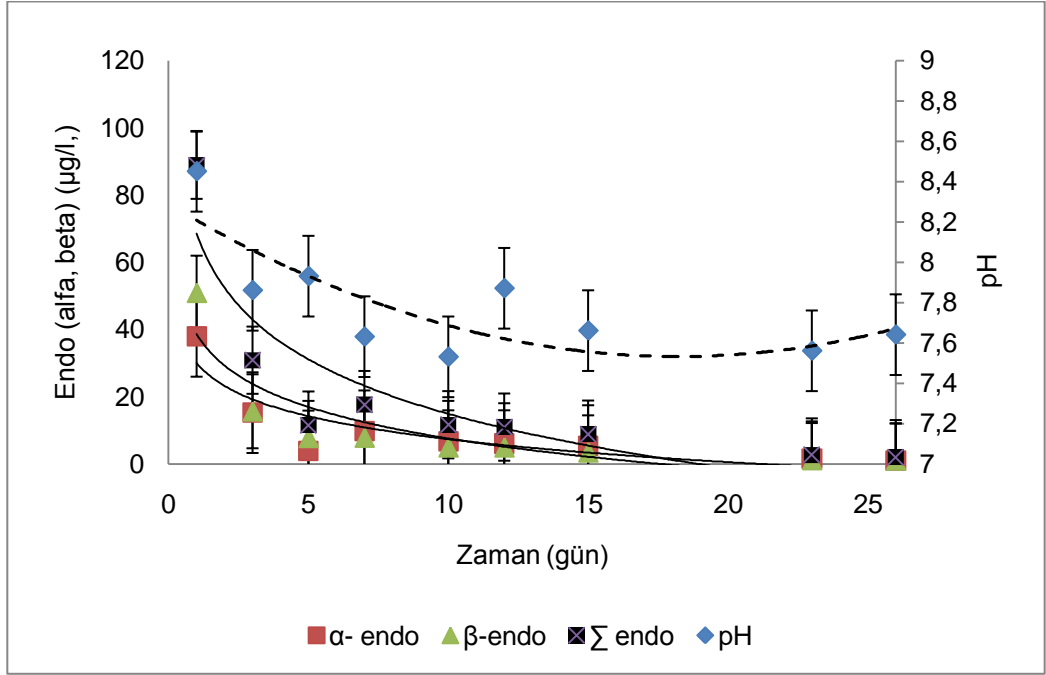
Şekil 6.31. Grup-2 için kesikli reaktör deneyi için mikrobiyolojik ortamda endosulfan + pH=8,4±0,1 olan ortamda mikrobiyolojik büyüme grafiği ve pH.

Üçüncü grup deney çalışmasında, mikrobiyolojik ortam, 0,1 mg/L endosulfan ve ek karbon kaynağı glikoz eklenen pH=6,5±0,1 ortam koşullarında pH'a bağlı endosulfan giderim grafiği, Şekil 6.32.'de verilmektedir. Grafikte de görüldüğü gibi iki günde pH değerinde değişiklik olmamış, α- endosulfan %27, β-endosulfan %18 ve toplam endosulfan %21 oranında parçalanmıştır. 9.günde pH=6,4±0,1 değerine düşerek α-endosulfan %49, β-endosulfan %43 ve toplam endosulfan %45 oranında parçalanmıştır. 26. günde α-endosulfan %63, β-endosulfan %50 ve toplam endosulfan %55 oranında parçalanma değerine ulaşmıştır.



Şekil 6.32. Grup 3 için mikroorganizma + besin + 0,1 mg/L endosulfan + 4 mg/L glikoz + pH=6,5±0,1 olan ortamda mikroorganizma büyüme grafiği ve pH.

Dördüncü grup deney çalışmasında, mikroorganizma kültürü, 0,1 mg/L endosulfan ve ek karbon kaynağı glikoz eklenen pH=8,4±0,1 ortam koşullarında pH'a bağlı endosulfan giderim grafiği, Şekil 6.33.'de verilmektedir. Grafikte de görüldüğü gibi üç günde pH=7,8±0,1 değerine düşerken α- endosulfan %60, β-endosulfan %69 ve toplam endosulfan %65 oranında parçalanmaktadır. 6. günde pH=7,6±0,1 değerine düşerken α- endosulfan %74, β-endosulfan %85 ve toplam endosulfan %80 oranında parçalanmaktadır. 9. günde pH değerinde değişiklik olmazken α- endosulfan %82, β-endosulfan %90 ve toplam endosulfan %87 oranında parçalanmaktadır. Dokuzuncu günden sonra endosulfan parçalanmasında önemli bir değişiklik olmamıştır. 26. günde α-endosulfan %97, β-endosulfan %98 ve toplam endosulfan %98 oranında parçalanma değerine ulaşmıştır.



Şekil 6.33. Grup-4 için mikroorganizma + besin olan endosulfan + pH=8,4±0,1 + 4mg/L glikoz olan ortamda mikroorganizma büyüme grafiği ve pH

Çizelge 6.9. Endosulfan giderim sonuçları.

Zaman (gün)	Grup -1			Grup- 2			Grup- 3			Grup- 4		
	% Endosulfan giderim			% Endosulfan giderim			% Endosulfan giderim			% Endosulfan giderim		
	α	β	Σ	α	β	Σ	α	β	Σ	α	β	Σ
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	34	33	33	41	41	41	27	18	21	60	69	65
4	57	63	64	49	66	58	59	43	50	90	85	87
6	48	46	47	70	81	77	41	36	38	74	85	80
9	56	49	52	81	86	84	49	43	45	82	90	87
11	55	55	55	82	89	86	46	40	43	84	90	88
14	40	41	41	84	91	88	43	36	39	86	93	90
22	64	56	59	94	95	95	59	46	51	96	98	97
25	61	57	59	96	97	97	63	50	55	97	98	98

Literatürde yapılan çalışmalarda, gram negatif bir bakteri türü olan *Bordetella sp. B9* ile endosulfanın parçalanması için mineral besi ortamına ek karbon kaynağı olarak dextroz eklemişler ve 18 günde, alfa endosulfanın %53, beta endosulfanın %48 oranında parçalandığını hesaplamışlardır. Ek karbon kaynağı olmayan ortamda alfa endosulfan %80, beta endosulfan %86 oranında parçalanmaktadır. Ek karbon kaynağının endosulfanın

parçalanmasında etkili olmadığı sonucuna varmışlardır. Çünkü, mineral besi ortamına dextroz eklendiğinde mikroorganizma tarafından karbon kaynağı olarak kolayca kullanılmaktadır. Mikroorganizma, endosulfana göre dextrozu enerji kaynağı olarak tercih etmektedir (Goswami ve Singh, 2009). Awasti vd. (1997) glukozun mineral besi ortamına eklenmesinin endosulfanın parçalanmasında bir etkisi olmadığını rapor etmişlerdir. Diğer bir araştırmada, Kumar ve Philip, 2006(b), karışık kültür (*Staphylococcus* sp., *Bacillus circulans* I, *Bacillus circulans* II) ile ek karbon kaynağı olarak dextroz kullanarak, endosulfanın parçalanmasını araştırmışlardır. Endosulfanın 4 hafta inkübasyon süresinden sonra aerobik ortamda %71, fakültatif ortamda %76 oranında parçalandığı, ek karbon kaynağı eklenmesi ile aerobik sistemlerde %13, fakültatif anaerobik sistemlerde %12 oranında arttırdığı sonucuna vardılar. Bhalerao ve Puranik (2007) *Aspergillus niger* türünün 12 günde endosulfanın tamamını parçaladığını belirlediler. Singh vd. (2010), endosulfanı tek sülfür kaynağı olarak kullanılarak topraktan izole edilen *Achromobacter xylosoxidans* türü ile alfa endosulfanı %94,12, beta endosulfanı ise %84,52 oranında parçalandığını rapor ettiler.

Biyolojik parçalanma sağlandıkça ortamının pH'sının azaldığı literatürde belirtmektedir. Bakteri kültür ortamında pH'da meydana gelen bu azalmanın endosulfanın halojenlenmesinden ve asidik maddelerin oluşmasından olabileceğini rapor etmişlerdir. pH'da meydana gelen azalmanın HCl oluşmasından dolayı yada mikroorganizmalar tarafından organik asit oluşması nedeniyle olabileceğini belirtmektedir. Bu sonuçlar pek çok araştırmada doğrulanmıştır (Sutherland vd. 2000, 2002; Kwon vd, 2002; Awasthi vd, 2003; Siddique vd. 2003a; Bhalera ve Puranik., 2009).

Awasthi vd (2000) toprakta endosulfan izomerlerinin parçalanmasında pH etkisi için yapılan araştırma sonucunda toprakta pH=3'te endosulfanın izomerlerinde parçalanma olmamış, pH=5'te yavaş bir parçalanma ve pH=7,5 ile 8,5 arasında önemli bir parçalanma görmüşlerdir. Hussain vd.

(2007) tarafından yapılan araştırmada, mikroorganizma türlerinin endosulfan parçalanması üzerine pH etkisini belirlemek için pH 4-10 aralığında araştırma yapmışlar. Alfa ve beta izomeri için maksimum parçalanmanın pH=6 değerinde olduğunu tespit etmişlerdir.

Tez alışması sonucunda, sadece endosulfanın karbon kaynağı olarak bulunduğu Grup-1 ve Grup 2 reaktörlerde pH değişimine göre endosulfanın giderim veriminin değiştiği belirlenmiştir. Grup-1 deneyi, pH=6,5 olan deneyde (şekil 6.2630.) endosulfan giderimim 9. günden sonra yavaşlamış ve 26. günde  $\alpha$ -endosulfan %61,  $\beta$ -endosulfan %57 ve toplam endosulfan %59 oranında parçalanmıştır. Grup-2 deneyi pH=8,4 $\pm$ 0,1 alkali ortamda (şekil 6.25) 6. günden sonra yavaşlamış ve 26. günde pH=7,44 $\pm$ 0,1 değerine düşerek  $\alpha$ -endosulfan için %96,  $\beta$ -endosulfan için %97 ve toplam endosulfan %97 oranında parçalanmıştır. Bu sonuçlar; endosulfanın alkali ortamda daha hızlı parçalandığını göstermektedir. Alkali ortamda, pH değerinde değişim endosulfan giderimine bağlı olarak daha yüksek çıkmaktadır. Alfa endosulfan ile beta endosulfanın parçalanması arasında önemli bir fark olmadığını göstermektedir.

Grup-3 ve Grup-4 reaktörlerde endosulfan parçalanması üzerine ek karbon kaynağının (glikoz) etkisi ve ayrıca pH etkisi belirlenmiştir. değişimine göre endosulfanın giderim veriminin değiştiği belirlenmiştir. Grup-3 deneyi, pH=6,5 olan deneyde (şekil 6.26.) ek karbon glikoz varlığında endosulfan giderimim 9. günden sonra yavaşlamış ve 26. günde  $\alpha$ -endosulfan %63,  $\beta$ -endosulfan %50 ve toplam endosulfan %55 oranında parçalanma değerine ulaşmıştır.

Grup-4 deneyi pH=8,4 $\pm$ 0,1 alkali ortamda (şekil 6.25) ek karbon kaynağı glikoz varlığında 6. günden sonra yavaşlamış ve 26. günde  $\alpha$ -endosulfan %97,  $\beta$ -endosulfan %98 ve toplam endosulfan %98 oranına ulaşmıştır Bu sonuçlar; ek karbon kaynağı varlığında endosulfanın alkali ortamda daha hızlı parçalandığını göstermektedir. Alkali ortamda endosulfan giderimine bağlı olarak daha yüksek çıkmaktadır. Alfa endosulfan ile beta endosulfanın

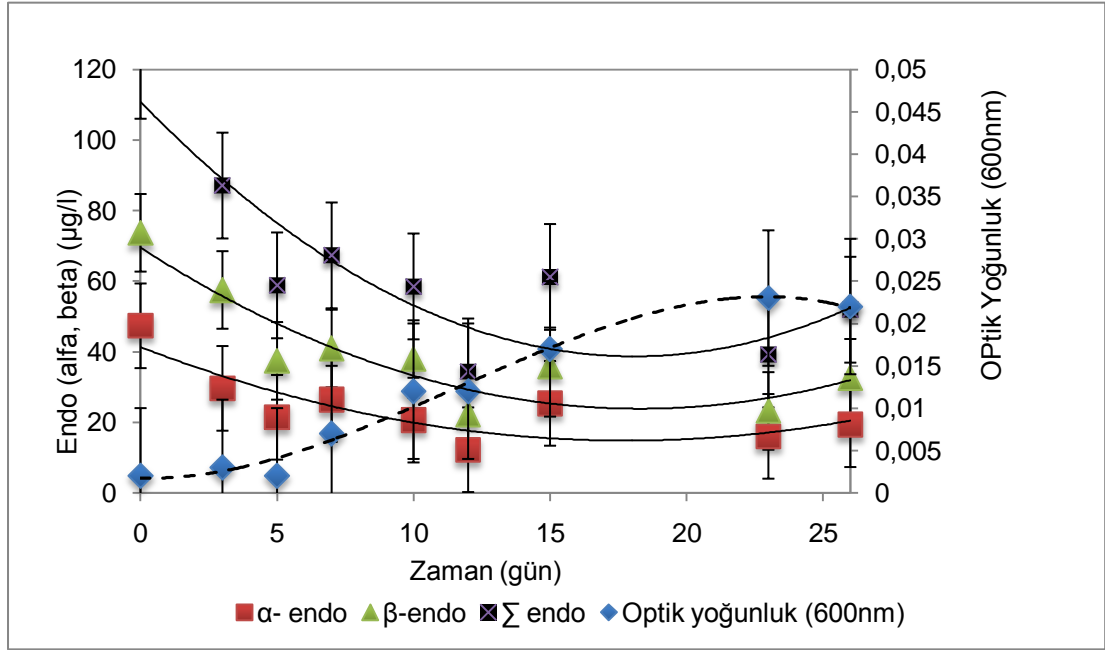
parçalanması arasında alkali ortamda fark yok iken, pH=6,5 olan ortamda alfa endosulfan daha hızlı parçalanmaktadır.

Yukarıda verilen sonuçlar, endosulfanın parçalanması üzerine glikozun etkisi olmadığı göstermektedir. Goswami ve Singh (2009) tarafından yapılan çalışmada da belirtildiği gibi mineral besi ortamında ek karbon kaynağının olması, mikroorganizmanın öncelikli olarak glikozu kullandığından endosulfanı parçalayamadığını göstermektedir.

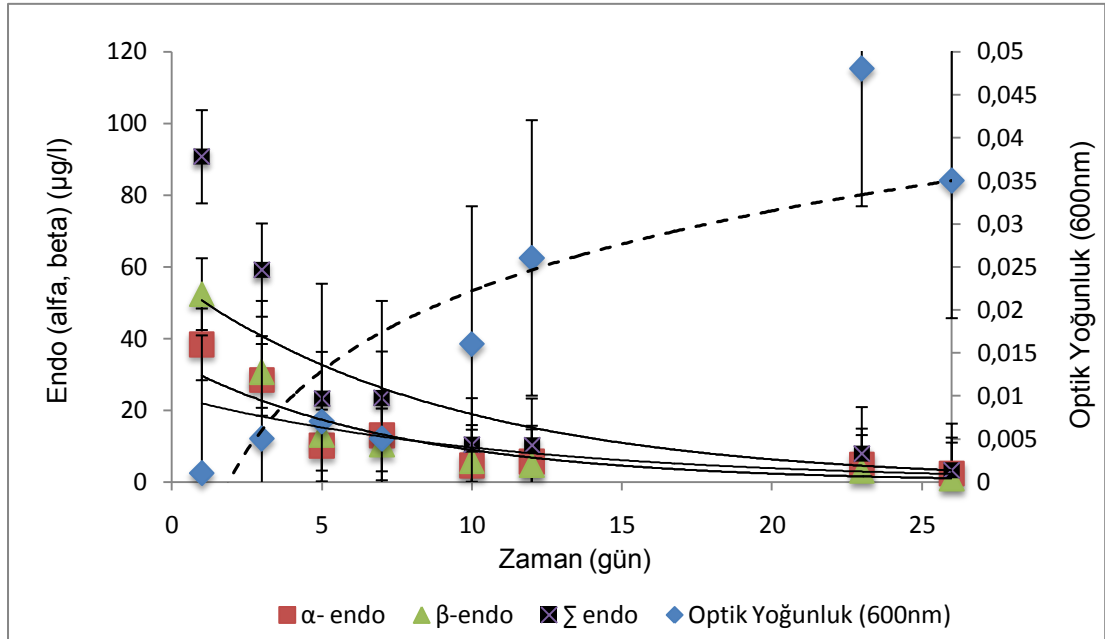
Ortam pH'ının alkali olması endosulfan giderim verimini arttırdığı sonucuna varılmıştır.  $\alpha$ -endosulfan ile  $\beta$ -endosulfan parçalanması arasında büyük bir fark olmadığı sonucuna varılmıştır.

#### **6.2.7 Endosulfan gideriminin mikroorganizma üremesi ile ilişkilendirilmesi**

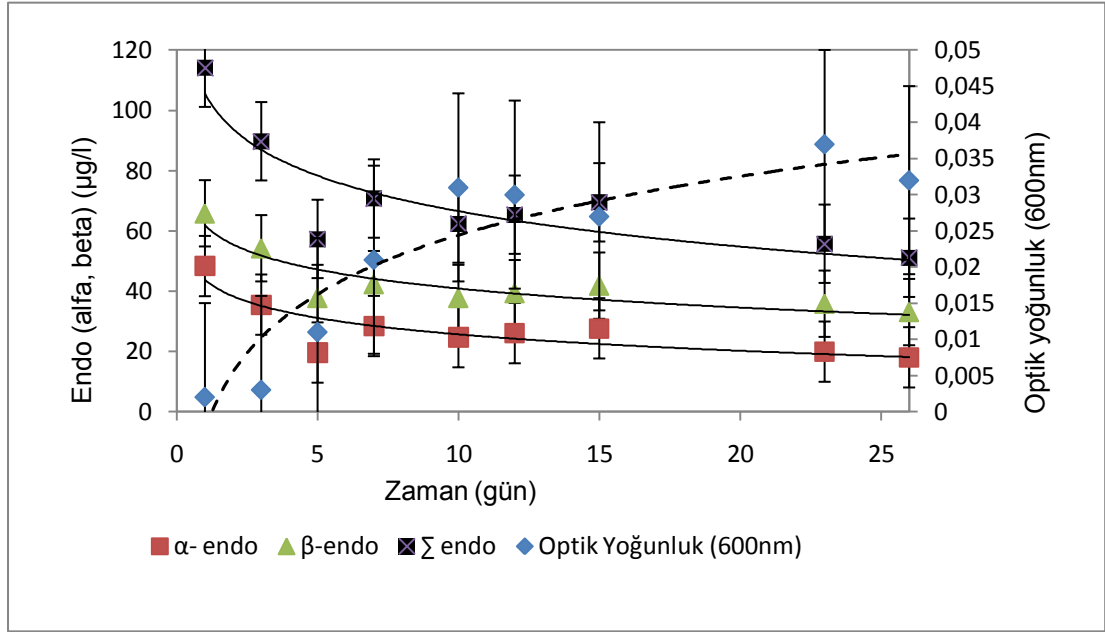
Endosulfanın mikroorganizma tarafından kullanıldığının gösterilmesi parçalanmanın biyolojik oluşumu göstermesi için gerekmektedir. Bu durumda mikroorganizma büyümesine bağlı olarak optik yoğunlukta artış, endosulfan konsantrasyonunda da azalma beklenmektedir. Farklı üreme koşullarında araştırılan bu bağlantı Şekil 6.34, 6.35, 6.36. ve 6.37.'da gösterilmektedir.



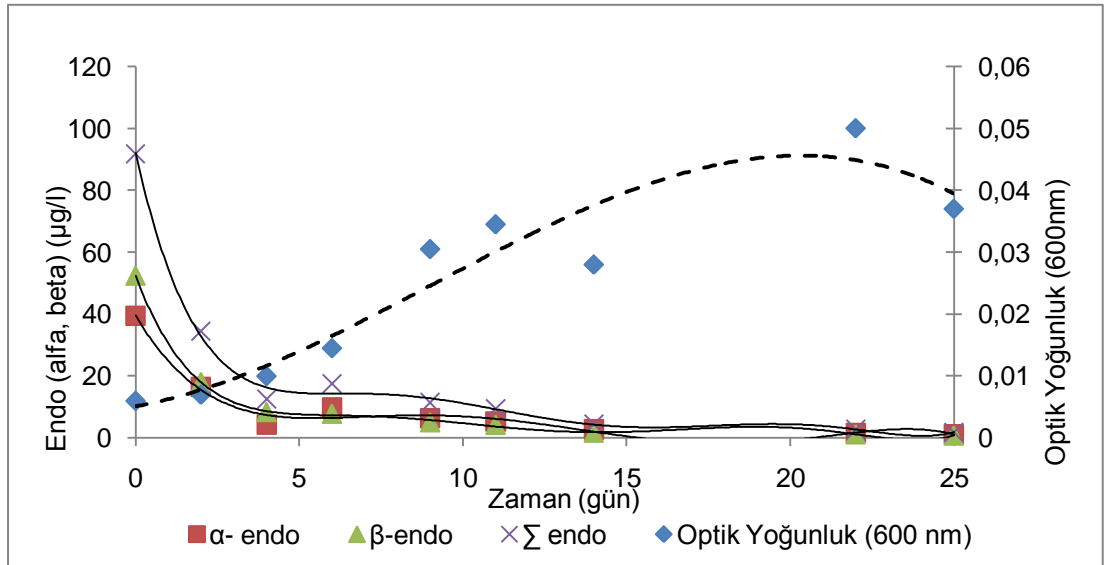
Şekil 6.34. Grup 1 için mikrobiyal gelişim + besin + 0,1 mg/L endosulfan + pH=6,5±0,1 olan ortamda optik yoğunluk (600 nm) ve endosulfan giderim grafiği.



Şekil 6.35. Grup 2 için mikrobiyal gelişim + besin + 0,1mg/L endosulfan + pH=8,4±0,1 olan ortamda optik yoğunluk (600 nm) ve endosulfan giderim grafiği.



Şekil 6.36. Grup 3 için mikrobiyal büyüme + besin + 0,1 mg/L endosulfan + pH=6,5±0,1 ve glikoz olan ortamda optik yoğunluk (600 nm) ve endosulfan giderim grafiği.

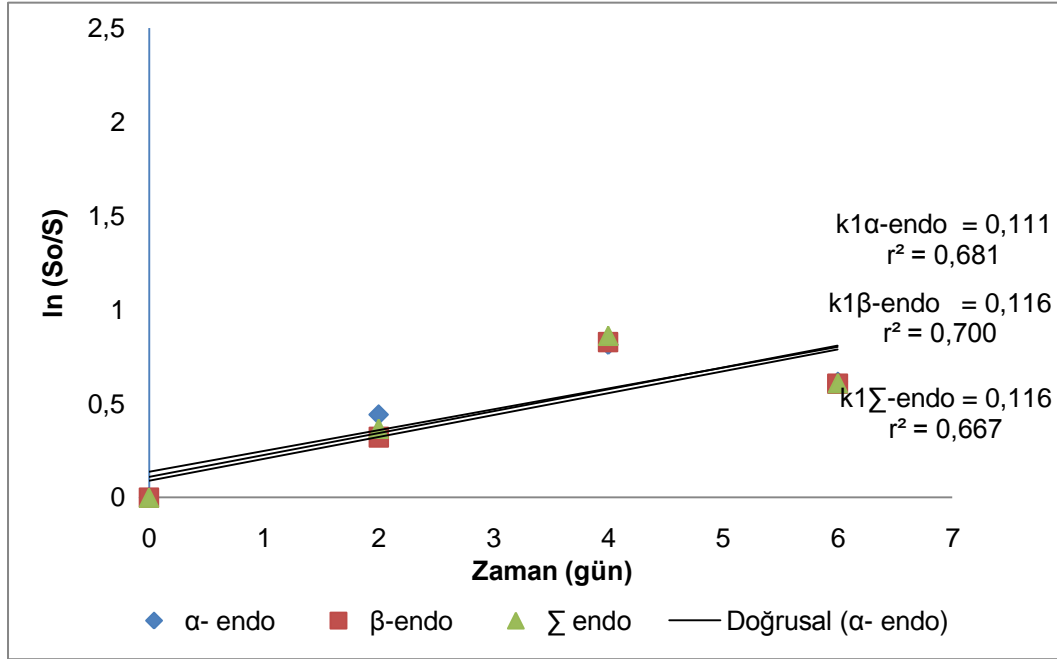


Şekil 6.37. Grup 4 için mikrobiyal büyüme + besin + 0,1 mg/l endosulfan + pH=8,4 ±0,1 ve glikoz olan ortamda optik yoğunluk (600 nm) ve endosulfan giderim grafiği.

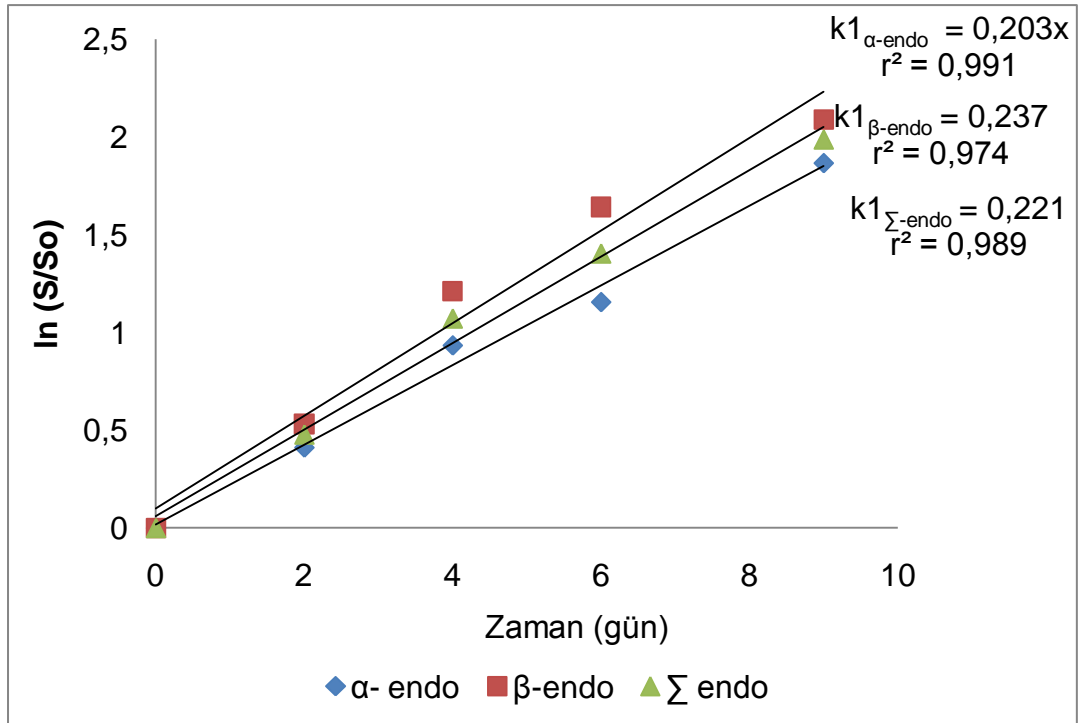
### 6.2.8 Endosulfan giderimi kinetik parametrelerinin hesaplanması

Karışık mikroorganizma kültürünün endosulfanı parçalama sabiti Bölüm 6.2.3.'de verilen denklem (6.2) kullanılarak hesaplanmıştır. Kesikli reaktör deneyleri parçalanma sabiti grafikleri aşağıda verilmektedir. Bu grafiklere bakılarak değerlendirme yapıldığında;

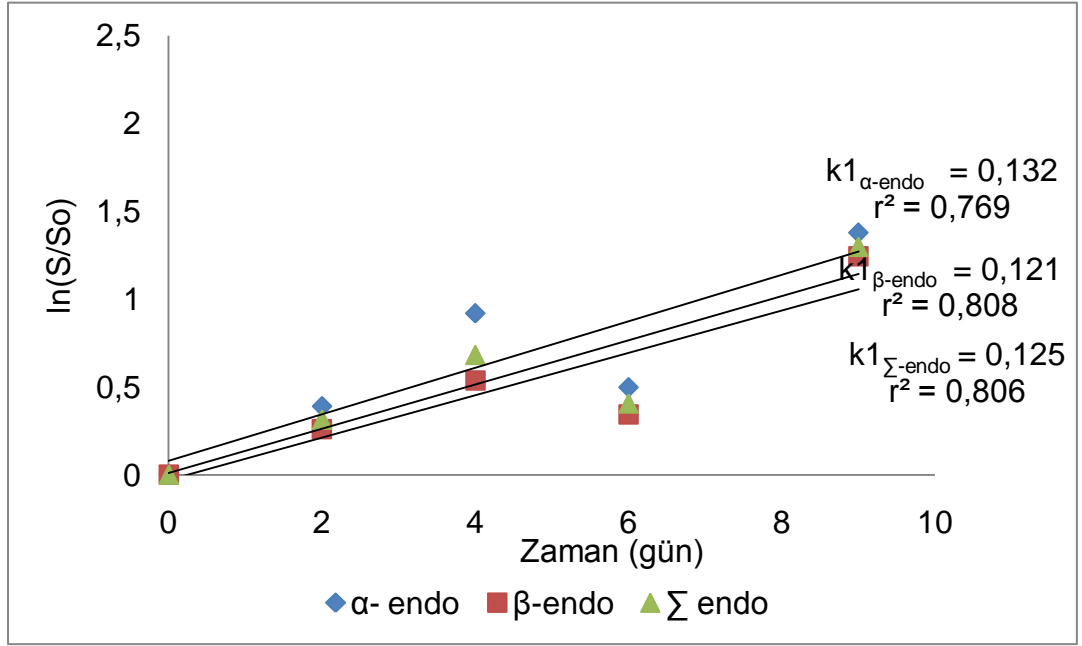
- Şekil 6.38.'de, Grup-1 kesikli reaktör deneyinde alfa endosulfan parçalanma sabiti  $k_1=0,111$  ( $r^2=0,681$ ), beta endosulfan parçalanma sabiti  $k_1=0,116$  ( $r^2=0,700$ ) ve toplam endosulfan parçalanma sabiti  $k_1=0,116$  ( $r^2=0,667$ ) olarak hesaplanmıştır.
- Şekil 6.39.'de, Grup-2 kesikli reaktör deneyinde alfa endosulfan parçalanma sabiti  $k_1=0,203$  ( $r^2=0,991$ ), beta endosulfan parçalanma sabiti  $k_1=0,237$  ( $r^2=0,974$ ) ve toplam endosulfan parçalanma sabiti  $k_1=0,221$  ( $r^2=0,989$ ) olarak hesaplanmıştır.
- Şekil 6.40.'da Grup-3 kesikli reaktör deneyinde alfa endosulfan parçalanma sabiti  $k_1=0,132$  ( $r^2=0,769$ ), beta endosulfan parçalanma sabiti  $k_1=0,121$  ( $r^2=0,808$ ) ve toplam endosulfan parçalanma sabiti  $k_1=0,125$  ( $r^2=0,806$ ) olarak hesaplanmıştır.
- Şekil 6.41.'da Grup-4 kesikli reaktör deneyinde alfa endosulfan parçalanma sabiti  $k_1=0,182$  ( $r^2=0,540$ ), beta endosulfan parçalanma sabiti  $k_1=0,244$  ( $r^2=0,861$ ) ve toplam endosulfan parçalanma sabiti  $k_1=0,214$  ( $r^2=0,745$ ) olarak hesaplanmıştır.



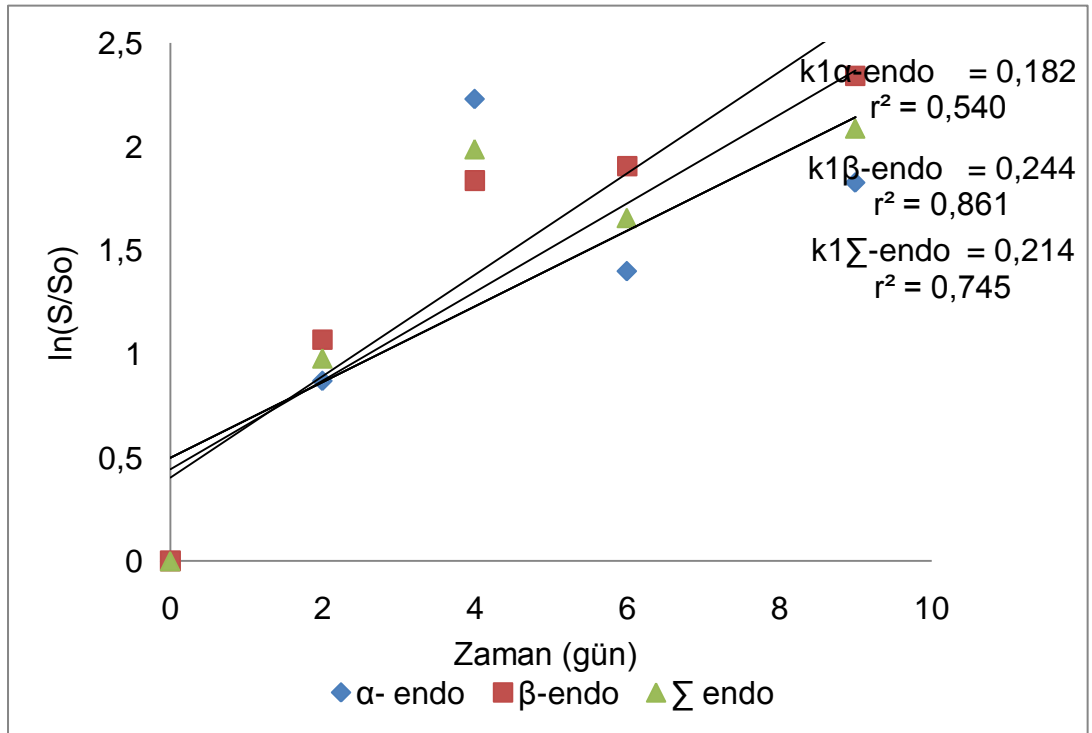
Şekil 6.38. Grup-1 kesikli reaktör deneyi için (mikroorganizma + mineral besin+ 0,1 mg/L endosulfan + pH=6,5±0,1) endosulfan parçalanma kinetiği.



Şekil 6.39. Grup-2 kesikli reaktörü için (mikroorganizma + mineral besin + 0,1mg/l endosulfan+pH=8,4±0,1) endosulfan parçalanma kinetiği.



Şekil 6.40. Grup-3 kesikli reaktörü için (mikroorganizma + besin +0,1 mg/L endosulfan + 4 mg/L glikoz + pH=6,5±0,1) endosulfan parçalanma kinetiği.



Şekil 6.41. Grup-4 kesikli reaktörü için (mikroorganizma + besin +0,1mg/l endosulfan + 4mg/l glikoz + pH=8,4±0,1) endosulfan parçalanma kinetiği.

Literatürde yapılan çalışmalarda, bulunan parçalanma sabiti değerleri Bölüm 6.3.3.'de verilmekte ve bu çalışmada hesaplana değerler Çizelge 6.10.'da verilmiştir. Literatürde yapılan çalışmalarda alfa endosulfan parçalanma sabiti, beta endosulfan parçalanma sabitinden daha küçüktür. Bu çalışmada, paralel sonuç çıkmaktadır. Yalnız Grup-3 kesikli reaktöründe alfa endosulfan sabiti beta endosulfan parçalanma sabitinden yüksek çıkmaktadır. Bu reaktörde ek karbon kaynağı olarak glikoz kullanılmıştır.  $\alpha$ -endosulfan parçalanma sabiti,  $\beta$ -endosulfan parçalanma sabitine göre küçük çıktığını rapor etmişlerdir. Bu deney kapsamında bu sonuçlara paralel sonuç çıkmıştır.  $\beta$ -endosulfanın parçalanma mekanizması  $\alpha$ -endosulfanın parçalanma mekanizmasından farklı olduğunu göstermektedir.

Çizelge 6.10. Set 2 kesikli reaktör deneyleri endosulfan parçalanma sabitleri.

	$\alpha$ -endosulfan	$\beta$ - endosulfan	Toplam endosulfan
K-1 kesikli deneyi (Bu çalışma)			
$r^2$	0,681	0,700	0,667
$k_1$ (gün <sup>-1</sup> )	0,111	0,116	0,116
K-2 kesikli deneyi (Bu çalışma)			
$r^2$	0,991	0,974	0,989
$k_1$	0,203	0,237	0,221
K-3 kesikli deneyi (Bu çalışma)			
$r^2$	0,769	0,808	0,806
$k_1$ (gün <sup>-1</sup> )	0,132	0,121	0,125
K-4 kesikli deneyi (Bu çalışma)			
$r^2$	0,540	0,861	0,745
$k_1$ (gün <sup>-1</sup> )	0,182	0,244	0,214

Yukarda anlatılan deney çalışmaları, kültür zenginleştirme tekniği ile endosulfanı parçalayabilen karışık bakteri kültürü elde edilmiştir. Karışık bakteri kültürünün izolasyonu yapılarak PCR tekniği ile 16S rDNA dizilimi ile *Methylobacterium rhodesianum*, *Afiplia Genosp* ve *Sphingomonas yanoikuyae* Q1 türleri tanımlanmıştır. Tanımlanan bakteri türleri literatürde bugüne kadar endosulfan biyolojik parçalanması için çalışma rapor edilmemiştir. Tanımlaması yapılan bakteri türleri ile karışık kültür olarak kesikli reaktör deneyleri yapılarak arıtım verimleri belirlenmeye çalışıldı.

Bundan sonraki bölümde bakteri kültürünün zeolit yüzeyinde biyobariyer oluşturma potansiyeli anlatılacaktır.

### **6.2.9 Endosulfan giderim sonuçlarının istatistiksel değerlendirilmesi**

Tez çalışmasında, endosulfan giderimi süreci incelenirken ve biyobariyer geliştirilirken elde edilen sonuçlar arasındaki ilişkilerin istatistiksel anlamlılığı değerlendirilmiştir. Kesikli reaktör deneylerinde, endosulfan giderimi istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Bu amaçla İstatistiksel program olan Statgraphics programı kullanılarak one way anova testi uygulanmıştır.

Varyans analizi (veya Anova), gözlenen varyansı çeşitli kısımlara ayırma yöntemiyle bazı değişkenlerin başka bir değişken üzerindeki etkisini incelemeye yarayan bir grup modelleme türü ve bu modellerle ilişkili işlemlere verilen genel isimdir. Bu tür modeller çözümlenen varyansın çeşitli açıklayıcı değişkenlerin etki parçalarına bölmesini incelerler.

#### **6.2.9.1 Regrasyon Analizi**

Regrasyon analizi bağımlı değişken ile bir veya daha çok bağımsız değişken arasındaki ilişkiyi incelemek amacıyla kullanılan bir analiz yöntemidir. Bir tek bağımsız değişkenin kullanıldığı regresyon tek değişkenli regresyon analizi, birden fazla bağımsız değişkenin kullanıldığı regresyon analizi de çok değişkenli regresyon analizi olarak adlandırılır.

**Tek Değişkenli Regrasyon Analizi** Tek değişkenli regrasyon analizi bir bağımlı değişken ve bir bağımsız değişken arasındaki ilişkiyi inceler. Tek değişkenli regresyon analizi ile bağımlı ve bağımsız değişkenler arasındaki doğrusal ilişkiyi temsil eden bir doğrunun denklemi formüle edilir.

Çalışmada, endosulfanın biyolojik parçalanması ile birlikte optik yoğunluğun arttığı Bölüm 6.2.7.'de görülmektedir. Endosulfanın iki izomeri olan alfa ve beta endosulfanın biyolojik parçalanması ile optik yoğunluk arasındaki ilişkiyi belirlemek için regrasyon analizi yapılmıştır. Analiz sonuçları, Çizelge 6.11.'de

verilmektedir. Çizelge 6.11'e göre Alfa ve Beta endosulfan konsantrasyon değeri azalması ile optik yoğunluk değerinin arttığı görülmektedir. Bu sonuç alfa beta endosulfanın mikroorganizmalar tarafından kullanıldığını göstermektedir.

Çizelge 6.11. Alfa ve Beta Endosulfan parçalanması ile Optik Yoğunluk arasındaki ilişkiye belirlemek için regresyon analizi

	Alfa Endosulfan	R <sup>2</sup> (%)
D1	$Y = 32,337 - 730,876 * X$	30
D2	$Y = 20,6066 - 387,513 * X$	38
D3	$Y = 39,1532 - 619,401 * X$	56
D4	$Y = 21,0048 - 463,901 * X$	41
	Beta Endosulfan	
D1	$Z = 51,546 - 1131,49 * X$	31
D2	$Z = 24,1468 - 493,31 * X$	34
D3	$Z = 56,6655 - 701,929 * X$	53
D4	$Z = 26,2131 - 620,808 * X$	40

Yukarıdaki eşitliklerde; Y= Alfa Endosulfan, X=Optik Yoğunluk, Z=Beta Endosulfan, D=Kesikli Reaktörü ifade etmektedir.

### 6.2.10 Kesikli Reaktörlerde pH Ölçümleri için Yapılan Anova Testi

Dört adet kesikli reaktör deney grubunun, alfa endosulfan ölçümleri kendi içerisinde varyans analizi uygulanmıştır. Deney şartları Çizelge 6.12.'de özetlenmektedir. Anova analizinde alfa, beta ve toplam endosulfan giderim verimi olarak istatistiksel analizler yapılmıştır. Analiz sonuçları aşağıda verilmektedir.

Çizelge 6.12. Endosulfan biyolojik parçalanması için deney şartları.

Deney Grupları	Deney şartları	Mineral Solüsyon	Mikroorganizma	Endosulfan	pH	Ek karbon kaynağı	Işık
D-1	Kesikli	Var	var	0,1 mg/l	6,5±1	yok	yok
D-2	Kesikli	Var	var	0,1 mg/l	8,4±1	yok	yok
D-3	Kesikli	Var	var	0,1 mg/l	6,5±1	Glikoz 4mg/L	yok
D-4	Kesikli	Var	var	0,1 mg/l	8,4±1	Glikoz 4 mg/L	yok

Kesikli reaktör deneylerinde alfa endosulfan giderimi için anova hesabı, Çizelge 6.13.'de verilmektedir. Çizelge 6.13.'e göre %95 güvenilirlik aralığında,  $p < 0,05$  olduğundan kesikli deneyler grupları için alfa endosulfan giderim verimi arasında bir fark olduğunu göstermektedir.

Çizelge 6.13. Kesikli reaktör deneyleride alfa endosulfan giderimleri için anova hesabı

Analysis of Variance					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	1746,1	3	582,034	4,22	0,0127
With in groups	4410,62	32	137,832		
Total (Corr.)	6156,73	35			

İstatistiksel olarak hangi kesikli reaktör deneyinde fark olduğunu belirlemek için Çoklu Değişim Aralığı Testi (Multiple Range Test) yapılmıştır. Analiz sonucu, Çizelge 6.14.'de verilmektedir. Çizelge 6.14'e göre İstatistiksel olarak aşağıdaki sonuçlara varılmıştır; (D-1 ve D-4),( D-2 ve D-3 ) ve (D-3 ve D-4) reaktörleri arasında istatistiksel olarak fark vardır. Bu reaktörler arasındaki temel fark pH değerlerinin farklı olmasıdır. Endosulfan gideriminde pH'nın etkili parametre olduğunu göstermektedir.

Çizelge 6.14. Kesikli reaktör deneyleri alfa endosulfan giderimleri için Çoklu Değişim Aralığı Testi (Multiple Range Tests) analizi.

Method: 95,0 percent LSD			
Kesikli Reaktörler	Count	Mean	Homogeneous Groups
D-4	9	9,665	X
D-2	9	12,9856	XX
D-1	9	24,2161	XX
D-3	9	25,8017	X
Contrast		Difference	+/- Limits
D-1 - D-2		11,2306	11,2732
D-1 - D-3		-1,58556	11,2732
D-1 - D-4		*14,5511	11,2732
D-2 - D-3		*-12,8161	11,2732
D-2 - D-4		3,32056	11,2732
D-3 - D-4		*16,1367	11,2732

Endosulfanın beta izomerinin kesikli reaktör deneylerinde biyolojik parçalanması veriminin istatistiksel olarak farkını belirlemek için one Way anova yapılmıştır. Analiz sonucu, Çizelge 6.15.'de verilmektedir. Analiz sonucuna göre; %95 güvenilirlik aralığında  $p < 0,05$  olması kesikli reaktör deneyleri arasında istatistiksel olarak fark olduğunu göstermektedir. İstatistiksel olarak hangi kesikli reaktör deneyinde fark olduğunu belirlemek için Çoklu Değişim Aralığı Testi (Multiple Range Test) yapılmıştır. Analiz sonucu, Çizelge 6.16.'da verilmektedir.

Çizelge 6.15.'e göre (D-1 ve D-2), (D-1 ve D-4) , (D-2 ve D-3) ve (D-3 ve D-4) kesikli reaktör deneylerinde temel fark pH değerleridir. pH değerinin değişmesi beta endosulfan parçalanmasını değiştirdiğini ve beta endosulfan gideriminde etkili bir parametre olduğunu göstermektedir.

Çizelge 6.15. Kesikli reaktör deneyleri için beta endosulfan giderimleri için anova hesabı.

Analysis of Variance					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	6894,47	3	2298,16	9,06	0,0002
With in groups	8115,91	32	253,622		
Total (Corr.)	15010,4	35			

Çizelge 6.16. Kesikli reaktör deneyleri beta endosulfan giderimleri için Çoklu Değişim Aralığı Testi (Multiple Range Tests) analizi.

Method: 95,0 percent LSD			
Kesikli Reaktörler	Count	Mean	Homogeneous Groups
D-3	9	11,0378	X
D-1	9	14,445	X
D-2	9	38,9739	X
D-4	9	41,535	X
Contrast		Difference	+/- Limits
D-1 - D-2		*24,5289	15,292
D-1 - D-3		-2,56111	15,292
D-1 - D-4		*27,9361	15,292
D-2 - D-3		*-27,09	15,292
D-2 - D-4		3,40722	15,292
D-3 - D-4		*30,4972	15,292

\* istatistiksel olarak datalar arasındaki farklılığı göstermektedir.

Toplam endosulfan giderimi kesikli reaktör deneylerinde biyolojik parçalanması veriminin istatistiksel olarak farkını belirlemek için one way anova yapılmıştır. Analiz sonucu, Çizelge 6.17’de verilmektedir.. Analiz sonucuna göre; %95 güvenilirlik aralığında  $p < 0,05$  olması kesikli reaktör deneyleri arasında istatistiksel olarak fark olduğunu göstermektedir. İstatistiksel olarak hangi kesikli reaktör deneyinde fark olduğunu belirlemek için Çoklu Değişim Aralığı Testi (Multiple Range Test) yapılmıştır. Analiz sonucu, Çizelge 6.18’de verilmektedir. Çizelge 6.18’e göre (D-1 ve D-2), (D-1 ve D-4), (D-2 ve D-3) ve (D-3 ve D-4) kesikli reaktör deneylerinde istatistiksel olarak fark vardır. İki kesikli reaktör deneyinde, ek karbon kaynağı olarak glikoz bulunmaktadır. Ayrıca, pH değerleri farklıdır

Çizelge 6.17. Kesikli reaktör deneyleri için toplam endosulfan giderimleri için anova hesabı.

Analysis of Variance					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	15466,1	3	5155,37	6,78	0,0011
With in groups	24321,6	32	760,051		
Total (Corr.)	39787,7	35			

Çizelge 6.18. Kesikli reaktör deneyleri Toplam Endosulfan giderimleri için Çoklu Değişim Aralığı Testi (Multiple Range Tests) analizi.

Method: 95,0 percent LSD			
Kesikli Reaktörler	Count	Mean	Homogeneous Groups
D-3	9	20,7028	X
D-1	9	27,4694	X
D-2	9	62,9567	X
D-4	9	67,3367	X
Contrast		Difference	+/- Limits
D-1 - D-2		*35,4872	26,4724
D-1 - D-3		-4,38	26,4724
D-1 - D-4		*42,2539	26,4724
D-2 - D-3		*-39,8672	26,4724
D-2 - D-4		6,76667	26,4724
D-3 - D-4		*46,6339	26,4724

\* istatistiksel olarak datalar arasındaki farklılığı göstermektedir

İstatistiksel dğerlendirmeler sonucunda, endosulfanın parçalanmasında pH değerinin etkili bir parametre olduğu sonucu çıkmıştır.

### 6.3 Biyobariyer Çalışmaları

Endosulfanı yerinde arıtmak ve yeraltı suyunu iyileştirmek için geliştirilen biyobariyerde dolgu maddesi ve tutunma yüzeyi olarak doğal zeolit kullanılmıştır. Biyobariyer tek boyutlu akış için kolon reaktör ile simule edilmiştir. Deney düzenekleri ile ilgili bilgiler aşağıda verilmektedir.

Kolon reaktör sürekli besleme hızı= 0,3 cm<sup>3</sup>/dk

Kolon reaktör izleyici madde deneylerinde kullanılan hız= 33,3 cm<sup>3</sup>/dk

$$\text{Kolon hacmi} = V = \pi \cdot r^2 \cdot h \quad (6.3)$$

Burada,

r= Kolon yarıçapı

h=Kolon yüksekliği

Buna göre reaktördeki gözeneklilik malzemenin boşluk hacminin, toplam hacme oranı olarak aşağıdaki gibi hesaplanır:

$$n = Vv/Vt \quad (6.4)$$

Burada,

n= porozite gözeneklilik

Vt = Toplam hacim (cm<sup>3</sup>)

Vv= Boşluk hacmi (cm<sup>3</sup>) (Kolon dolu iken sıvının geçtiği hacim alınmıştır).

Kolon akış şartları ile ilgili veriler aşağıda verilmektedir.

$$\text{Kolon Hacmi} : V = 3,14 \cdot (2,23)^2 \cdot 33 = 515 \text{ cm}^3$$

Kolon toplam hacmini belirlemek için, ayrıca boş kolon suyla doldurulmuştur.

Kolon toplam hacmi V<sub>T</sub>=520 cm<sup>3</sup> çıkmıştır.

Kolon boşluk hacmini belirlemek için zeolit ile dolu iken sıvı geçirilmiştir.

Kolon boşluk hacmi=280 cm<sup>3</sup> çıkmıştır.

Porozite hesabında, deneysel yöntemle çıkan kolon toplam hacmi esas alınmıştır.

Porozite, denklem (6.4) deki formül kullanılarak

$n=280 \text{ cm}^3/520 \text{ cm}^3= 0,54$  olarak hesaplanmıştır.

### **6.3.1 Biyobariyer Dolgu Malzemesinin Tanımlaması**

Biyobariyerlerde dolgu malzemesi olarak tanımlanan yapı sadece taşıyıcı olarak kullanılmaz, arıtımın performansında da etkilidir. Bu çalışmada, biyobariyer oluşturmak için kullanılan yukarı akışlı kolon reaktörde mikroorganizma gelişim yüzeyinin zeolit olmasının gerekçeleri vardır. Literatürde, doğal zeolit yüzeyinde biyofilm oluşturarak çeşitli kirleticilerin arıtılması için çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda, doğal zeoliti bakteri (*Arthrobacter viscosus*) için destek yüzeyi olarak kullanılarak biyofilm oluşturup 1,2 –diklorobenzen giderimi araştırılmıştır (Figueiredo vd., 2006). Başka bir çalışmada ir tür yapay zeoliti olan NaY, bakteri (*Escherichia coli*) için destek yüzeyi olarak kullanılarak biyofilm oluşturup Cr<sup>+6</sup>, Cd<sup>+2</sup>, Fe<sup>+3</sup> ve Ni<sup>+2</sup> giderim çalışmaları yapılmıştır (Quintelas, 2009). Doğal zeolit, biyofilm için iyi bir destek malzemesidir. Ayrıca, doğal zeolitin ucuz olması nedeni ile arıtım çalışmalarında kullanımı ekonomiktir (Lameiras vd., 2008). Bu nedenlerden dolayı, kolon reaktörde dolgu malzemesi ve mikroorganizma destek yüzeyi için Manisa (Gördes) Yöresi doğal zeolit kullanılmıştır. Kullanılan doğal zeolit Rota Madencilik A.Ş.'den alınmıştır. Ayrıca zeolitin kimyasal tanımlaması için MTA Genel Müdürlüğü Maden Analizleri Ve Teknolojisi Dairesi Laboratuvarında, XRF ve XRD analizleri yaptırılmıştır. Ayrıca, Rota Madencilik A.Ş. tarafından yaptırılmış olan doğal zeolite ait kimyasal sonuçlar Ek-6.'da verilmekte ve Çizelge 6.19.'de özetlenmektedir.

Çizelge 6.19. Doğal Zeolitin XRF analiz sonuçları.

Kimyasal İçerik (%)	Rota Madencilik A.Ş	MTA Genel Müdürlüğü Maden Analizleri ve Teknolojisi Dairesi Laboratuvarında
SiO <sub>2</sub>	65-72	70,9
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	10-12	11,5
CaO	2,5-3,7	2,8
K <sub>2</sub> O	2,3-3,5	2,1
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0,8-1,9	1,2
MgO	0,9-1,2	1,2
Na <sub>2</sub> O	0,3-0,65	0,5
TiO <sub>2</sub>	0-0,1	0,1
MnO	0-0,3	0,1

Yukarıda verilen sonuçlar zeolitin biyobariyer oluşumu aşamasında elektron taramalı X-ray analiz sonuçlarını değerlendirmede referans değerler olarak kullanılmıştır.

Doğal zeolitin tanımlası XRD ile yapılmıştır. Rota Madencilik A.Ş. tarafından verilen XRD sonuçlarına göre %88-95 klinoptilolit, %3-5 feldispat, %2-5 montmorillonit, %0-2 kristobalit ve % 0-3 muskovit olarak tanımlanmıştır. MTA tarafından verilen XRD sonucu, doğal zeolitin, klinoptilolit olduğu feldispat grubu mineral içerdiği, çok az simektit grubu kil minerali ve amorf madde içerdiği rapor edilmiştir. Ek-6.'da tanımlama sonuçları verilmektedir.

Doğal zeolitin dane dağılımını belirlemek ve deneylerde aynı dane boyu ile çalışmak için elek analizi yapılmıştır. Elek analizi Hacettepe Üniversitesi Maden Mühendisliği Bölümü laboratuvarında yapılmıştır. Deney sonuçları Ek 2.'de verilmektedir.

Elek analiz sonucu deneylerde kullanılan doğal zeolitin boyut dağılımı: + 1000 mikron, +850 mikron, +710 mikron, + 600 mikron olarak elde edilmiştir.

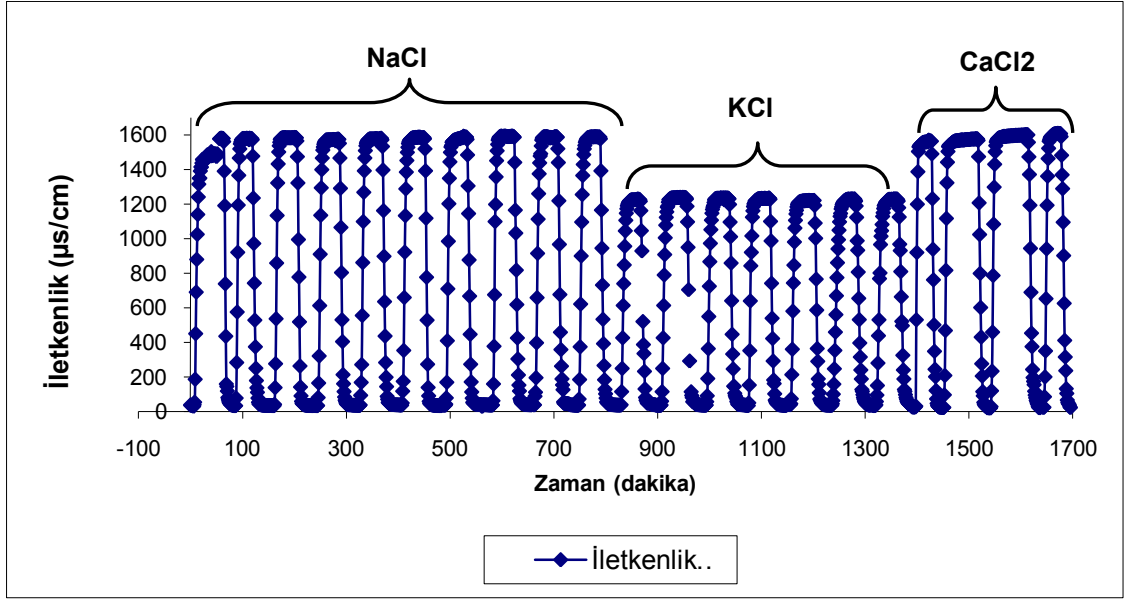
Kolonda 710 mikron boyutundaki zeolit dolgu kullanılmıştır. Bu boyuttaki zeolit dolgunun kullanılmasının nedeni daha küçük yüzey kullanarak mikroorganizmaların destek yüzey alanını arttırmaktır.

#### **6.3.1.1 Piston Akışlı Reaktörlerde (Dolgulu Kolon) Kullanılan İz Maddenin Belirleme Çalışmaları**

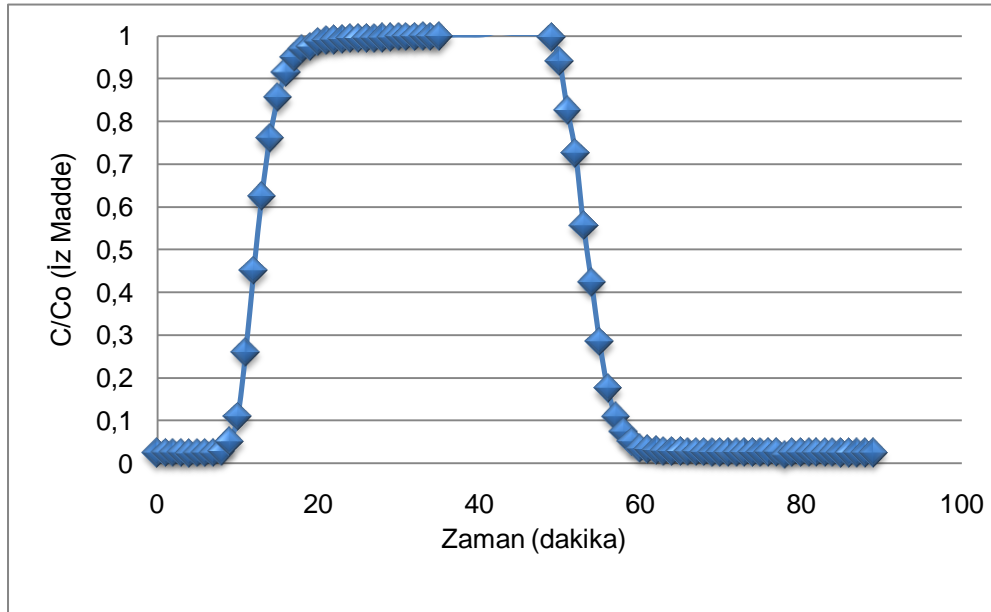
Kolondaki porozite, laminar akış şartları, hidrostatik iletkenlik parametrelerinin belirlenmesinde kullanmak için, dolgu maddesi ve biyofilm ile en az etkileşimi verecek iz-madde deneyler sonunda seçilmiştir.

Dolgulu kolonda kullanılacak uygun iz maddenin belirlenmesi amacıyla  $\text{CaCl}_2$ , KCl ve NaCl kullanarak taşınım deneyleri yapılmıştır. Deney grafiği toplu olarak, Şekil 6.42.'de verilmektedir. Kolonlarda taşınımı belirlemek için iletkenlik ölçümleri yapılmıştır. Elde edilen iletkenlik verileri E- eğrilerine dönüştürülmüştür. Ek-7.'de her bir parametre için yapılan taşınım deney grafikleri verilmektedir.

Yapılan izleyici deney sonucu Şekil 6.42.'de gösterildiği gibi, zeolit yüzeyi ile etkileşimin  $\text{NaCl}=\text{CaCl}_2<\text{KCl}$  sırası ile olduğu grafikte de görülmektedir. KCl zeolit tarafından tutuklanması tekrarlanan iz-madde analizleri ile kesin olarak belirlenmiştir. NaCl diğerlerine göre afinitesi en düşük olarak rapor edilen katyondur. Ayrıca  $\text{Na}^+$  biyofilm yapıları için bir özellik taşımamaktadır. Bu sonuçlara göre kolon için en iyi izleyici madde NaCl olarak belirlenmiştir. Şekil 6.43.'de izleyici maddenin kolondan çıkış profili görülmektedir.



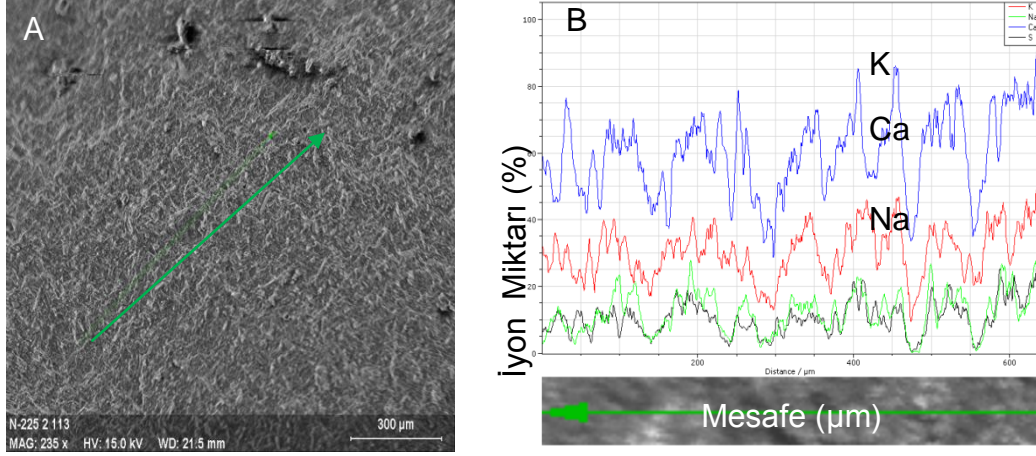
Şekil 6.42. NaCl ve KCl, CaCl<sub>2</sub> için yapılan 21 set izleyici deney grafiği.



Şekil 6.43. Kolondan izleyici madde çıkış grafiği.

İzleyici kimyasalların ve endosulfanın zeolit yapısında meydana getirdiği kimyasal değişikliği anlamak için elektron taramalı X-ray spektrofotometresinde (EDS) zeolit kimyasal karakterizasyonu yapılmıştır.

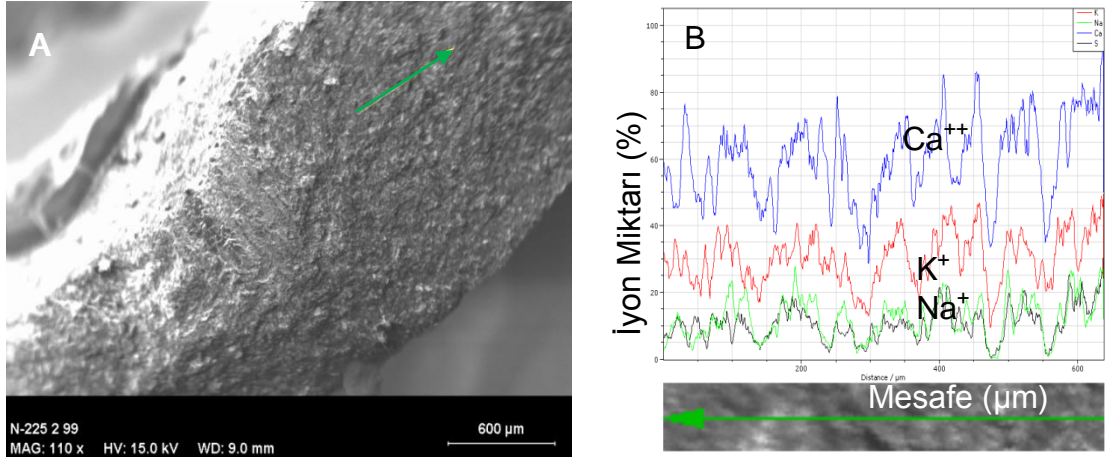
Deneyler sonucunda; doğal zeolitin SEM görüntüsü ve enerji yayımlı X-ışını spektroskopisi ile yapılan kimyasal karakterizasyonu Şekil 6.44.'de verilmektedir. Grafikte görüldüğü üzere doğal zeolitte iyonların sıralaması  $K^+ > Ca^{++} > Na^+$  şeklindedir.



Şekil 6.44. Doğal zeolitin a) SEM görüntüsü b) Enerji Yayımlı X-ışını Spektroskopisi ile kimyasal karakterizasyonu

Bölüm 6.3.1.'de belirtildiği doğal zeolitin MTA laboratuvarındaki XRF sonucunda zeolit yüzeyinde sıralaması  $Ca^{++} > K^+ > Na^+$  şeklindedir. Rota Madenciliğin verdiği kimyasal analiz raporunda  $Ca^{++} \cong K^+ > Na^+$  şeklinde sıralanmıştır. Bu sonuçlar; doğal zeolit kalsiyum ve potasyumca zengin bir elementtir. Elektron mikroskop analizinde de aynı sonuç belirlenmiştir.

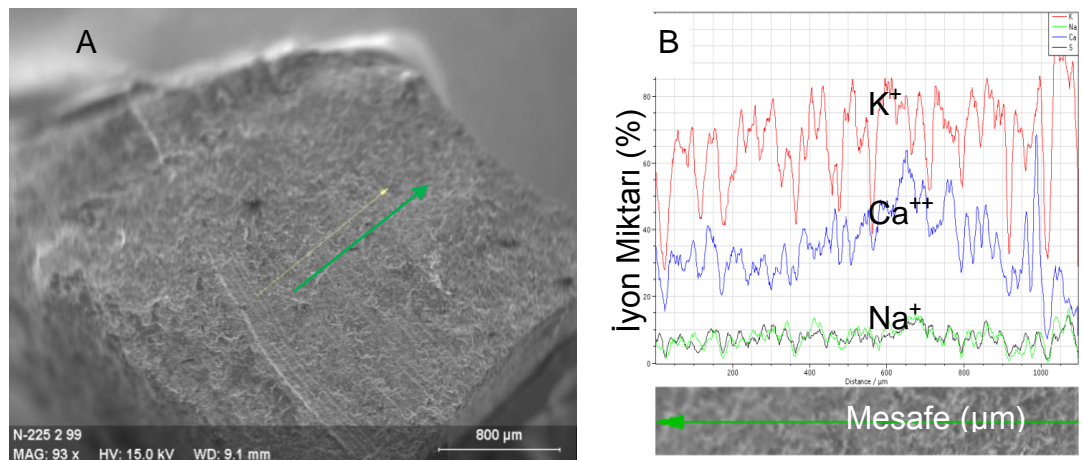
Şekil 6.45.'da  $CaCl_2$  ile işlem görmüş zeolitin SEM fotoğrafı ve enerji yayımlı X-ışını spektroskopisi ile yapılan kimyasal karakterizasyonu görülmektedir. Grafikte görüldüğü üzere iyonların sıralaması  $Ca^{+2} > K^+ > Na^+$  şeklindedir.



Şekil 6.45. CaCl<sub>2</sub> ile işlem görmüş doğal zeolitin a) SEM görüntüsü b) Enerji Yayılımlı X-Işını Spektroskopisi ile kimyasal karakterizasyonu

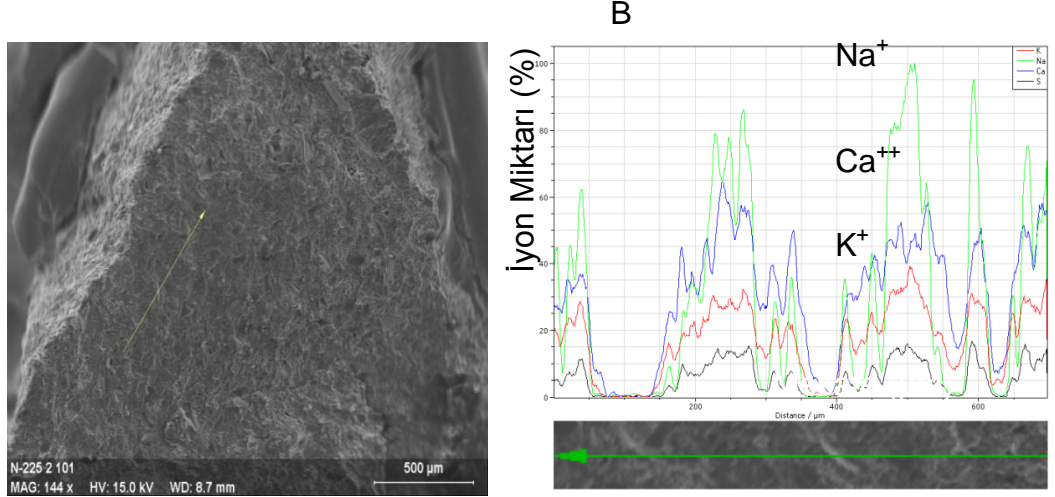
CaCl<sub>2</sub> ile işlem görmüş zeolitte Ca<sup>++</sup> iyonu, K<sup>+</sup> iyonuna göre daha elektronegatif olduğundan (Ersoy vd, 2001) K<sup>+</sup> ile Ca<sup>+2</sup> iyonunun yer değiştirdiği enerji yayımlı X-ray spektroskopisi kimyasal karakterizasyonu sonucu çıkmaktadır.

Şekil 6.46.'da KCl ile işlem görmüş zeolitin SEM fotoğrafı ve enerji yayımlı X-Işını spektroskopisi ile yapılan kimyasal karakterizasyonu görülmektedir. Grafikte görüldüğü üzere doğal zeolitte iyonların sıralaması K<sup>+</sup>>Ca<sup>+2</sup>>Na<sup>+</sup> şeklindedir.



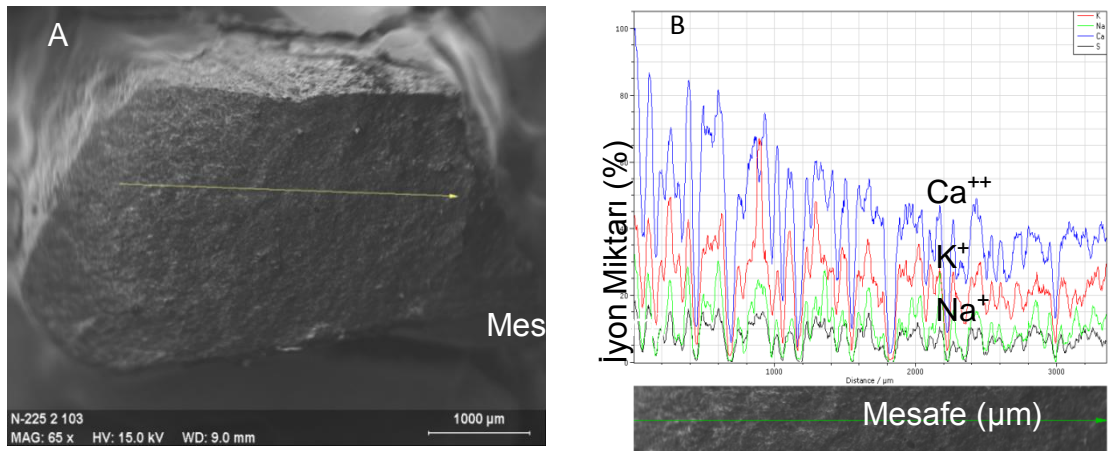
Şekil 6.46. KCl ile işlem görmüş doğal zeolitin a) SEM görüntüsü b) Enerji Yayılımlı X-Işını Spektroskopisi ile kimyasal karakterizasyonu

Şekil 6.47.'de NaCl ile işlem görmüş zeolitin SEM fotoğrafı ve enerji yayımlı X-Işını spektroskopi ile yapılan kimyasal karakterizasyonu görülmektedir. Grafikte görüldüğü üzere iyonların sıralaması  $\text{Na}^+ > \text{Ca}^{+2} > \text{K}^+$  şeklindedir.



Şekil 6.47. NaCl ile işlem görmüş doğal zeolitin a) SEM görüntüsü b) Enerji Yayımlı X-Işını Spektroskopi ile kimyasal karakterizasyonu

Şekil 6.48.'de endsulfan ile işlem görmüş zeolitin SEM fotoğrafı ve enerji yayımlı X-Işını spektroskopi ile yapılan kimyasal karakterizasyonu görülmektedir. Grafikte görüldüğü üzere doğal zeolitte iyonların sıralaması  $\text{Ca}^{+2} > \text{K}^+ > \text{Na}^+$  şeklindedir.



Şekil 6.48. Endsulfan ile işlem görmüş doğal zeolitin a) SEM görüntüsü b) Enerji Yayımlı X-Işını Spektroskopi ile kimyasal karakterizasyonu

Bu zeolitin MTA'da yaptırılan kimyasal analizine göre %70,9 SiO<sub>2</sub>, %11,5 Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, %2,1 K<sub>2</sub>O, %2,8 CaO, %0,5 Na<sub>2</sub>O, %1,2 MgO ve %1,2 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> içermektedir. Kullanılan zeolitin K<sup>+</sup>, Ca<sup>+2</sup> ve Na<sup>+</sup> iyonları için gösterdiği afinite sıralaması Ca<sup>+2</sup>>K<sup>+</sup>>Na<sup>+</sup> şeklindedir.

Bu durum, Çizelge 6.20. ile açıklanabilir. Literatürdeki çalışmalardan da bilindiği üzere klinoptilolit bünyesinde var olan katyon tipi, katyon değiştirme mekanizmasını doğrudan etkileyen bir parametredir. Her bir katyonun yapıdaki yerleşim yeri, elektronegatifliği, koordinasyon sayısı, dipol momenti, iyon çapı vb. özelliklerine bağlı olarak diğer bir inorganik veya organik katyonla iyon değiştirme kapasitesi ve ayrıca gaz halindeki CO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> vb. moleküllerle olan etkileşimleri farklıdır. Bu farklılıkta, özellikle organik katyon halindeki adsorbatlar için molekülün düz veya dallanmış zincirli olması da büyük önem taşımaktadır.

Ayrıca K-Klinoptilolit ve Doğal-Klinoptilolit ile elde edilen adsorpsiyon kapasitesinin diğerlerine göre bir miktar daha düşük olması, hem zeolitik ve hem de non-zeolitik yapıda yer alan bu katyonlardan potasyumun, sodyum ve kalsiyuma oranla kristal yapıdaki bağının daha kuvvetli olması diğer bir ifadeyle koordinasyon sayısının daha yüksek olması ve buna bağlı olarak da iyon değiştirme kabiliyetinin daha düşük olmasından kaynaklandığı söylenebilir. Bununla birlikte özellikle klinoptilolit kanal açıklıklarından geçebilecek adsorbat molekülleri ile klinoptilolit arasındaki etkileşimlerde iyon veya moleküllerin elektronegatiflik değeri, polarizasyonu, boyutu vb. özellikleri de göz önünde bulundurulmalıdır (Ersoy vd. 2001).

Çizelge 6.20. Klinoptilolit yapısında bulunan önemli katyonların bazı fiziksel özellikleri.

Katyon	İyon Çapı (Å)	Klinoptilolitdeki koordinasyon sayısı	Elektronegatiflik değeri (Paul'a göre)
Na <sup>+</sup>	0.98	2xO (Oksijen), 5x1 <sup>0</sup>	0.9
Ca <sup>++</sup>	1.17	2xO, 5xH <sub>2</sub> O	1.0
K <sup>+</sup>	1.33	6xO, 5xH <sub>2</sub> O	0.8

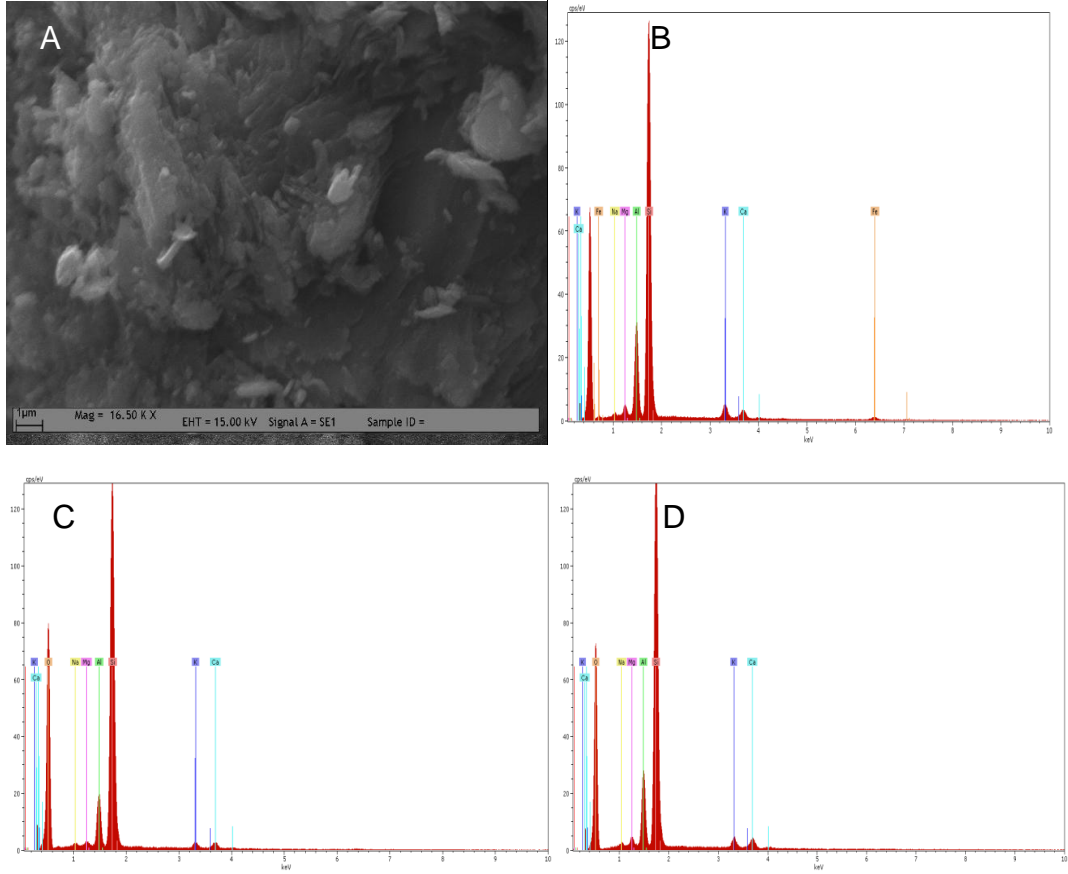
Yukarıda verilen grafiklerden de görüldüğü üzere, mikroorganizma için destek yüzeyi olarak kullanılan doğal zeolitin izleyici maddeler kullanılması ile yapısında meydana gelen kimyasal değişiklik deneysel olarak belirlenmeye çalışılmıştır. Bundan sonraki bölümde zeolit yüzeyinde biyofilm gelişimi ve zeolit yüzeyinde meydana gelen kimyasal değişim anlatılacaktır.

### 6.3.2 Zeolit Üzerinde Oluşan Biyofilm'in İncelenmesi

Doğal zeolit yüzeyinde, biyofilm gelişip gelişmediğini belirlemek için kolon reaktör 9 ay sonra açıldığında alınan zeolit örneği üzerinde elektron taramalı x-ray spektrofotometre kimyasal karakterizasyonu yapılmıştır. Biyofilm gelişen zeolit örneği ile karşılaştırma yapabilmek için aynı anda doğal zeolit örneği ve kolondan çıkarılan ve üzerinde biyofilm bulunan zeolitin 550<sup>0</sup>C de yakılmasından sonra elde edilen zeolitinde elektron taramalı x-ray spektrofotometre kimyasal karakterizasyonu yapılmıştır. Kimyasal karakterizasyon belirlenmesinde doğal zaolitte bulunan Al<sup>+3</sup>, Si<sup>+2</sup>, Fe<sup>+2</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>+2</sup>, Na<sup>+</sup>, Mg<sup>+2</sup> elementleri ile mikroorganizmanın yapısında bulunan N, P ve S analizi yapılmıştır. SEM için hazırlanan örnekler karbon ile kaplandığı için bu yöntem ile karbon analizi yapılması mümkün değildir.

Şekil 6.49'da doğal zeolitin SEM görüntüsü ve B, C, D'de ise zeolit örneği yüzeyinde 3 farklı noktada elektron taramalı x-ray spektrofotometre ile Al<sup>+3</sup>, Si<sup>+2</sup>, Fe<sup>+2</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>+2</sup>, Na<sup>+</sup>, Mg<sup>+2</sup> elementlerinin kimyasal karakterizasyonu sonuçlarını gösteren grafikler verilmektedir. Çizelge 6.12'de doğal zeolit için

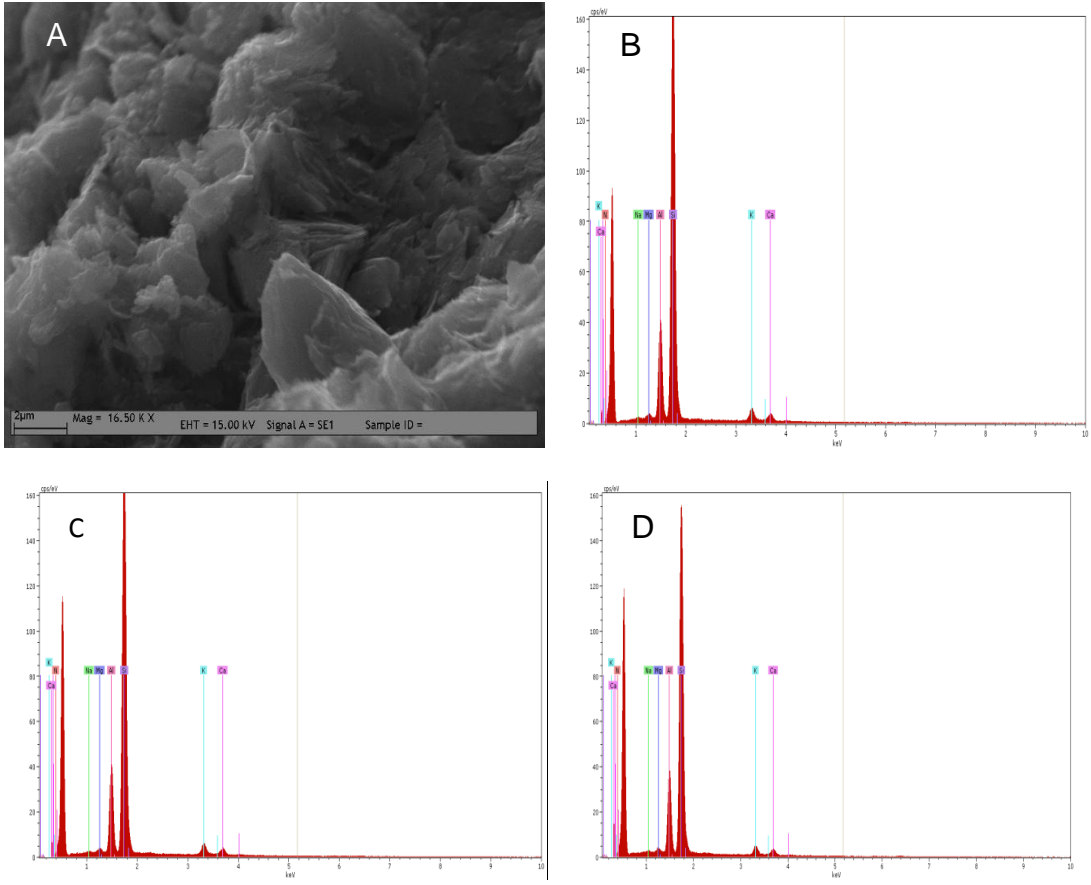
yapılan elektron taramalı x-ray spektrofotometre sonuçlarında doğal zeolitte %0,06 Na<sub>2</sub>O, %0,83 MgO, %12,62 Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, % 80,36 SiO<sub>2</sub>, %2,62 K<sub>2</sub>O ve %3,5 CaO olduğu belirlenmiştir.



Şekil 6.49. Doğal zeolitin A) SEM görüntüsü, B,C,D) Elektron taramalı X-ray spektrofotometresi kimyasal karakterizasyonu.

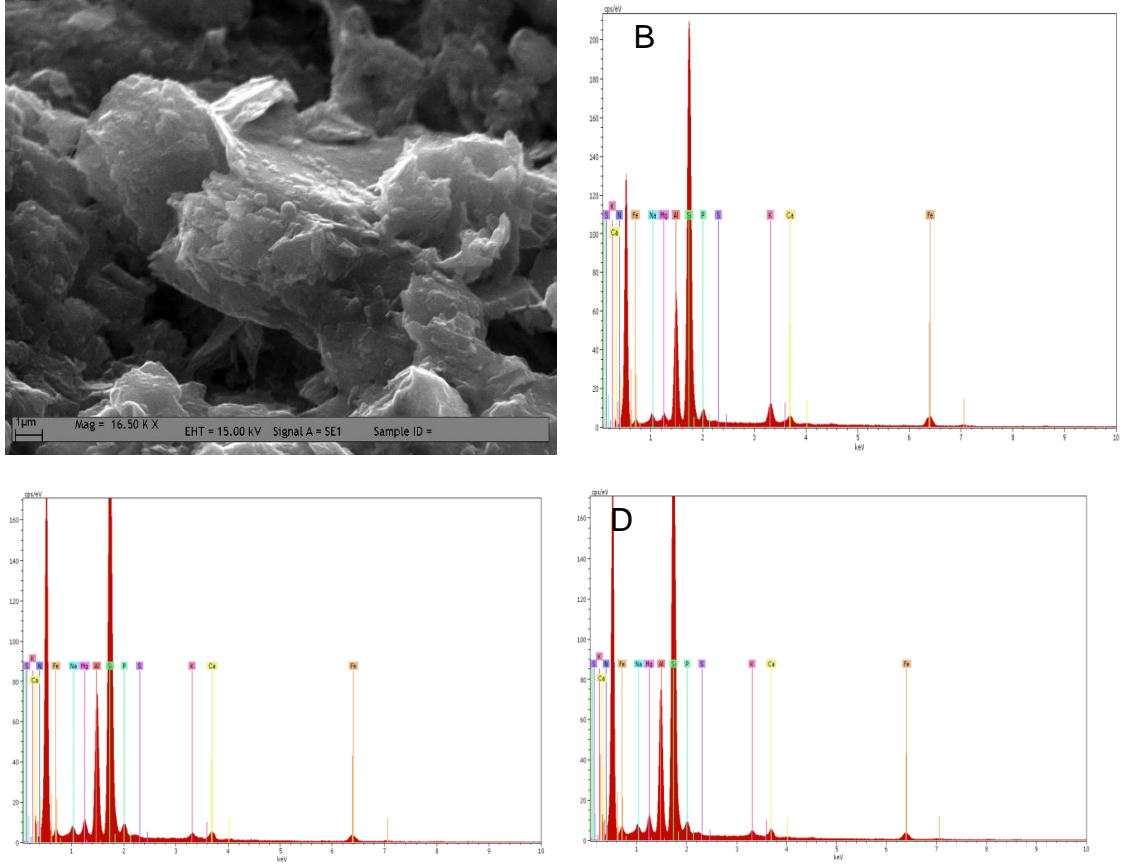
Şekil 6.50.'da tamamen yanmış zeolitin SEM analizleri yer almaktadır. Çizelge 6.12.'de biyofilm kaplı doğal zeolitin 550<sup>0</sup>C'de yakılması ile hazırlanan örneğe ait elektron taramalı x-ray spektrofotometre sonuçları verilmektedir. Doğal zeolit sonuçları ile karşılaştırıldığında; Na<sub>2</sub>O doğal zeolitte %0,06 oranında bulunurken, biyofilm kaplı zeolit 550<sup>0</sup>C'de yakıldıktan sonra %0,03 inmiş, MgO %0,83'den yanma sonrası %0,05'e inmiş, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>'daki değişim %12,62'den %12,08'e, SiO<sub>2</sub>'de ise %80,36'dan %75,17'e, K<sub>2</sub>O %2,62'den %3,66'e çıkmış ve CaO doğal zeolitte %3,5 iken, yanma

sonrası %2,73 azalmıştır. Doğal zeolit (klinoptilolit) 750<sup>0</sup>C'ye kadar yapısını koruyabildiği bilinmektedir (Gündoğdu vd, 1991) bu nedenle 550<sup>0</sup>C'de yapısında bir değişiklik beklenmemektedir ve bazı gözlenen farkların kolon reaktörde biyofilm oluşumu ve biyolojik aktivite ile bağlantılı olduğu şeklinde yorumlanabilir.



Şekil 6.50. Kolon reaktörde zeolit yüzeyinde gelişen biyofilm 550<sup>0</sup>C'de yanması sonucu A) SEM görüntüsü B,C,D) elektron Taramalı X-ray spektrofotometresi kimyasal karakterizasyonu.

Şekil 6.51.'de kolon reaktörde, zeolit yüzeyinde gelişen biyofilmin SEM görüntüsü ve B,C,D ise zeolit örneği yüzeyinde 3 farklı noktada elektron taramalı x-ray spektrofotometre Al, Si, Fe, K, Ca, Na, Mg, P, Fe, S, N elementlerine bakılarak kimyasal karakterizasyonu grafikleri verilmektedir.



Şekil 6.51. Kolon reaktörde zeolit yüzeyinde gelişen biyofilm A)SEM görüntüsü B,C,D) Elektron taramalı X-ray spektrofotometresi kimyasal karakterizasyonu.

Biyofilm kaplı doğal zeolitin kimyasal karakterizasyon sonuçları, Çizelge 6.21.'de verilmektedir. Biyofilm oluşumuna karar vermek için fosfor azot, demir ve kükürt iyonlarına bakıldığında, doğal zeolitte ve biyofilm kaplı doğal zeolitin 550<sup>0</sup>C'de yanmasından sonra elemental analizi yapıldığında, bu iyonların belirlenemediğini görüyoruz. Bu sonuç zeolit yüzeyinde biyobariyer oluşumu doğrulamaktadır.

Çizelge 6.21. Doğal zeolit, kolon reaktörde zeolit yüzeyinde oluşan biyofilm ve kolon reaktörde zeolit yüzeyinde oluşan biyofilmin 550<sup>0</sup>C'de yakılmasından sonra yapılan elektron taramalı x-ray spektroskopisi kimyasal karakterizasyonu

Örnek	Bileşik Adı (%)										
	Na <sub>2</sub> O	MgO	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	SiO <sub>2</sub>	K <sub>2</sub> O	CaO	PO <sub>4</sub>	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	N <sub>2</sub> O	SO <sub>3</sub>	Cl
Doğal Zeolit-1	0,16	0,89	11,96	80,24	3,03	3,70					
Doğal Zeolit-2	0,00	0,68	12,07	80,52	3,00	3,73					
Doğal Zeolit-3	0,03	0,92	13,84	80,33	1,83	3,07					
<b>Doğal zeolit ortalama</b>	<b>0,06</b>	<b>0,83</b>	<b>12,62</b>	<b>80,36</b>	<b>2,62</b>	<b>3,50</b>					
Biyofilm -1	2,93	0,90	11,85	57,37	1,38	3,15	8,69	5,36	8,01	0,38	0,00
Biyofilm-2	3,64	0,91	10,86	57,14	0,98	3,80	10,78	3,30	7,78	0,82	0,00
Biyofilm -3	2,63	0,53	10,83	59,19	1,08	4,64	12,29	3,75	4,79	0,26	0,00
<b>Biyofilm - ortalama</b>	<b>3,06</b>	<b>0,78</b>	<b>11,18</b>	<b>57,90</b>	<b>1,15</b>	<b>3,86</b>	<b>10,59</b>	<b>4,14</b>	<b>6,86</b>	<b>0,49</b>	<b>0,00</b>
550 <sup>0</sup> C'den sonra biyofilm zeolit-1	0,00	0,07	12,70	75,14	3,51	2,61			5,97		
550 <sup>0</sup> C'den sonra biyofilm zeolit-2	0,00	0,07	11,14	74,96	3,39	2,59			7,85		
550 <sup>0</sup> C'den sonra biyofilm zeolit-3	0,08	0,00	12,39	75,39	4,09	2,99			5,05		
<b>550<sup>0</sup>C'den sonra biyofilm zeolit ortalama</b>	<b>0,03</b>	<b>0,05</b>	<b>12,08</b>	<b>75,17</b>	<b>3,66</b>	<b>2,73</b>			<b>6,29</b>		

Çizelge 6.21.'de doğal zeolit, biyofilm kaplı zeolit ve 550<sup>0</sup>C'de zeolitin yakılmasından sonra bileşiklerdeki yüzde değişim farklılığı verilmektedir. Yüzde değişimlerin anlamlılığını belirlemek amacı ile Çizelge 6.21 verilen sonuçların istatistiksel değerlendirilmesi Anova analizi yapılarak değerlendirilmiştir. Analiz sonucunda, doğal zeolit, biyofilm kaplı zeolit ve 550<sup>0</sup>C'de zeolitin yakılmasından sonra Na<sub>2</sub>O, MgO, SiO<sub>2</sub>, K<sub>2</sub>O ve CaO bileşiklerinde istatistiksel olarak fark olduğu sonucu çıkmıştır. Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> bilşiğinde istatistiksel olarak fark yoktur. İstatistiksel analiz sonuçları, Bölüm 6.3.2.1.'de verilmektedir.

Literatürde, yüzey üzerinde SEM-EDS yöntemi kullanılarak biyofilm kimyasal karakterizasyonuna yönelik çalışmalar bulunmaktadır. Wallström ve Karlsson

(2004), tarafından yapılan çalışmada yüksek voltaj yalıtımda kullanılan silikon lastik üzerinde biyofilm gelişimini belirleyebilmek için, silikon lastik kimyasal yapısı ile, mikroorganizmanın yapısında bulunan Fe, Mn, K, Al, Na, Mg ve S elementlerine SEM-EDS'de bakarak biyofilm oluşumuna karar vermişlerdir. Kröpfl vd. (2003) tarafından yapılan çalışmada polikarbonat maddeler yüzeyinde biyofilm gelişimini toplam yansımali X-ışını spektrofotometresinde belirlemişlerdir. Bunun için mikroorganizmanın temel elementlerinden olan Fe, Mn ve K bakmışlardır. Souza vd. (2005), tarafından yapılan çalışmada siyanobakteri hücre duvarındaki magnezyum ve silika elementlerine EDS yöntemi ile bakmışlardır.

Biyobariyerin aktivasyonu için, yaş yöntem kullanılarak hazırlanan kolon reaktörlerden iki hacim mikroorganizma konsorsiyumu içeren solüsyon geçirilmiş, yüzeye tutunmanın sağlanması için yirmidört saatlik bekleme süresi uygulanmıştır. Daha sonra ilk iz madde ölçümü yapılmış ve biyobariyer devreye alınmıştır. Biyobariyer çalışmaları sırasında dört adet deney seti kullanılmıştır. Üç deney setinde solüsyon pH'sı pH=7 olarak kullanılmıştır. Bir deney setinde ilave karbon kaynağı olarak glikoz (4 mg/L) kullanılmış ve pH=8,4 ayarlanmıştır. Bu reaktör literatürde belirtilen uygun şartların biyobariyerde oluşturulması durumunda nasıl bir performansın ortaya konacağını belirlemek için yapılmıştır.

Biyobariyerde endosulfan giderimi başlangıçta  $\alpha$  ve  $\beta$  izomerleri için farklı ve düşük (~%50) iken, giderim zamanla artmış ve beşinci ay itibari ile 100%'e ulaşmıştır.

Reaktörlerdeki başlangıç ve deney süresinin sonunda gözlenen hidrolik bekleme süreleri (HRT) Çizelge 6.22.'de verilmektedir. Ortalama olarak 30 dakika olarak hesaplanan reaktörlerdeki HRT biyofilmin gelişmesi ile değişime uğramıştır. Zaman içinde, biyofilmin gelişmesi ile birlikte kolonlarda kısa yol oluşumları, uzun geri çekilme kuyrukları ve iz madde profilinde form

bozuklukları gözlenmiştir. Reaktörlerin HRT'sinin uzaması gibi görünen zaman aslında iz maddenin biyofilm içinde ve akışı engelenen bölgelerde geçirdiği zamanın bir yansımasıdır. Reaktörlerin bu durumu aşağıda verilen şekillerle de gösterilmektedir.

Çizelge 6.22. Reaktörlerdeki başlangıç bekleme süreleri (İz Madde debileri)

	1. Deney Seti	2. Deney Seti	3. Deney Seti	4. Deney Seti
İz madde yükleme metodu	Sürekli	Sürekli	Anlık	Anlık
Başlangıç Hidrolik Bekleme Süresi (dakika)	35,5	46	32	33
Deney Sonu Hidrolik Bekleme Süresi (dakika)	55	55	52	48

Kısa yol ve ölü bölge oluşumlarını daha kolay gösterdiği için ikinci grup deneylerde reaktörlere anlık iz madde yüklemeleri yapılmıştır.

Biyobariyer reaktörlerinde kullanılan çözeltilerdeki endosulfan konsantrasyonu 100µg/L'dir. pH'sı ayarlanan ve glikoz eklenen reaktörde görülen endosulfan giderimi, sadece besi maddeleri içeren ve pH'sı pH=7 olan reaktöre göre daha iyi giderim göstermiştir, ancak başlangıçta görülen bu fark zaman içinde ortadan kalkmıştır (Çizelge 6.23). Glikoz ve pH ayarlaması ile çalışan reaktörde daha etkili gözenek tıkanmaları görülmüştür. Düzenleme yapılmayan kolon reaktörde başlangıçta çok düşük  $\alpha$ -endosulfan giderimi elde edilmesi (%19), mikroorganizmaların öncelikle  $\beta$ -endosulfanı parçaladıklarını göstermektedir. Glikozun varlığında endosulfan izomerlerinin giderimi sırasında bir fark görülmemiştir. Glikoz içeren ve pH'sı ayarlı biyobariyerlerde ilk aylarda görülen endosulfan giderim farkı yaklaşık %10'dur. Bu sonuçlara göre endosulfan arıtımı için hazırlanan biyobariyerlere glikoz eklenmesi ve pH değerinin 8'lere ayarlanması çok büyük bir fark yaratmamaktadır. Özellikle de bu farkın sadece biyofilmin olgunlaşması sürecinde görülmesi nedeni ile pH düzenlemesinden ve glikoz eklenmesinin yapılmamasına karar verilmiştir. Bu gerçek uygulamalarda da dikkate alınabilecek ve ekonomik faydalar sağlayabilecek bir gözlemdir.

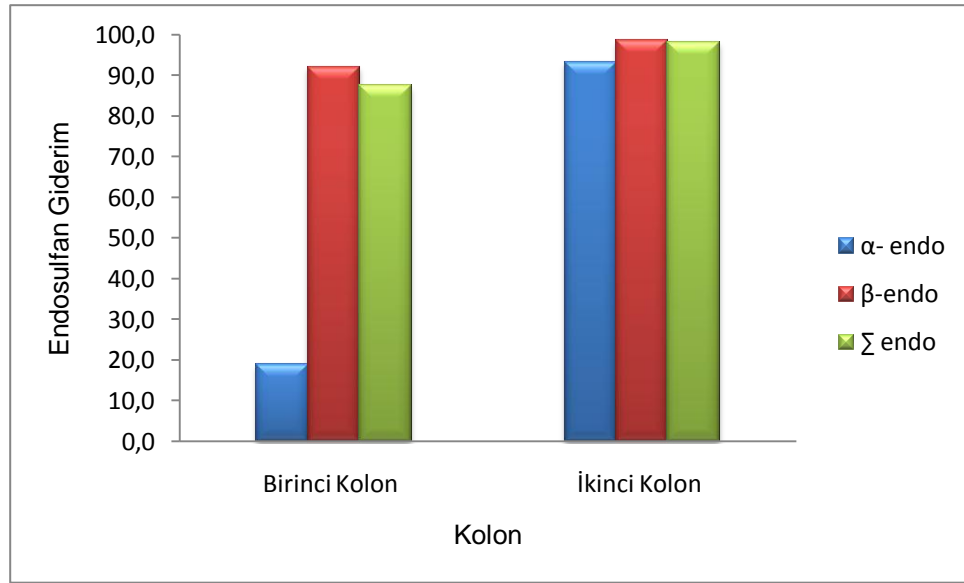
Kolon reaktör endosulfan giderimi grafiği, Şekil 6.52.'de ve fotoğraf görüntüsü Şekil 6.53.'de verilmektedir.

Çizelge 6.23. Set 1-birinci kolon için endosulfan giderimi.

	$\alpha$ - endo	$\beta$ -endo	$\Sigma$ endo
Reaktör 1'de % Endosulfan Giderimi*	18,9	92,2	87,5
Reaktör 2'de Endosulfan Giderim**	93,3	98,6	98,2

\* Endosulfan+mineral besi ortamı ile sürekli besleme

\*\* Endosulfan+ 4 mg/L glikoz+ pH=8,3+mineral besi ortamı ile sürekli besleme



Şekil 6.52. Dolgulu kolonları için % endosulfan giderim sonuçları (İkinci kolon glikoz ile desteklenen ve pH=8,3 olan reaktör sonuçlarını göstermektedir.)

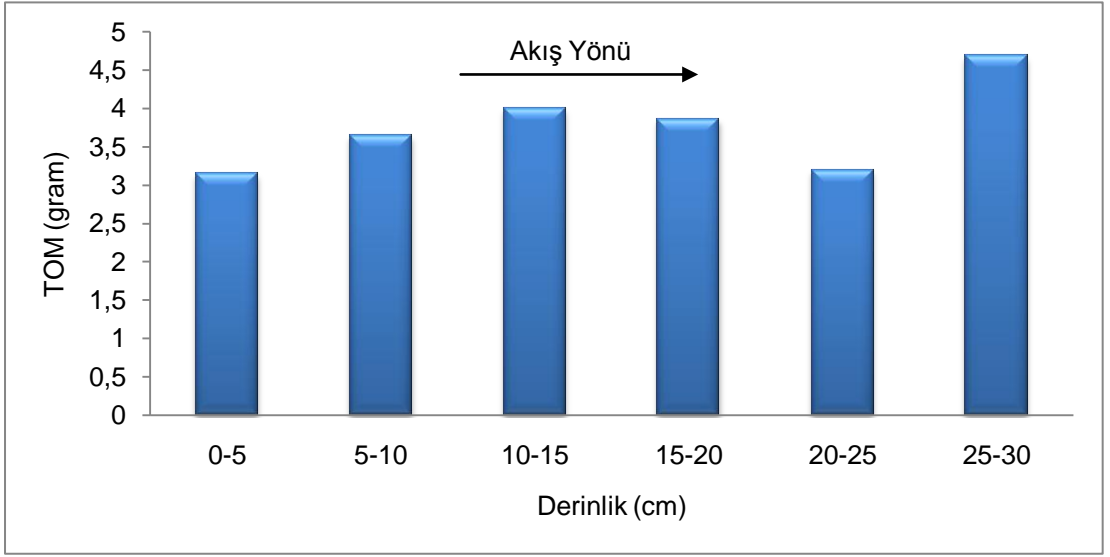


Şekil 6.53. Set -1 Birinci ve ikinci dolgulu kolonların fotoğraf görüntüsü.

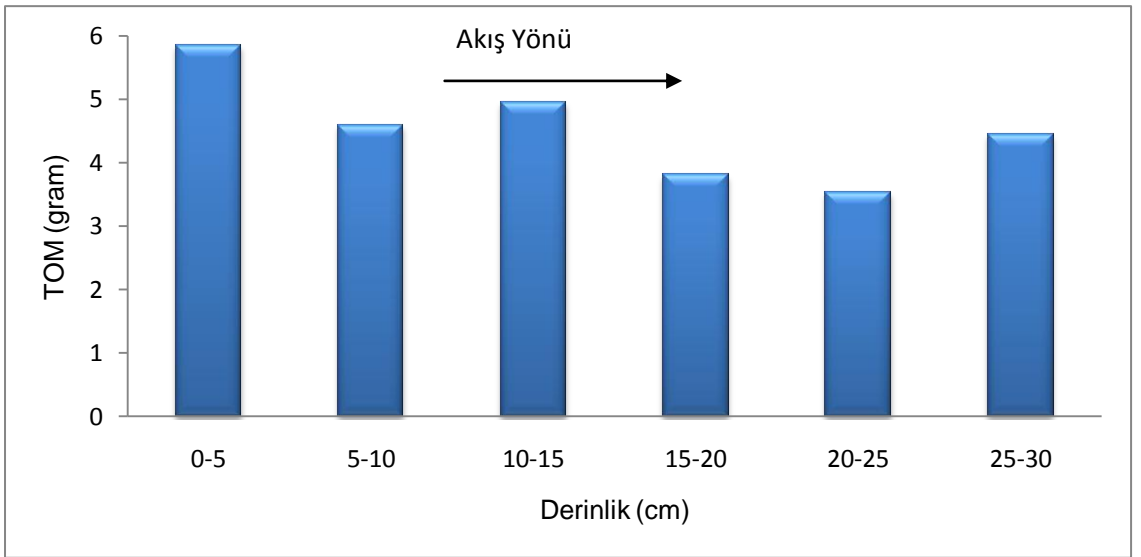
Deney çalışmalarının sonunda, pH'sı düzenlenmiş ve karbon kaynağı olarak glikoz kullanılmış reaktör ve normal şartlarda kullanılan biyobariyer kolonu içinde yeralan zeolit altı parçaya ayrılmış ve zeolit üzerinde biriken mikroorganizma miktarı toplam organik madde (TOM) olarak belirlenmiştir (Şekil 6.56). Her iki reaktörden elde edilen TOM miktarı sonuçları biyobariyer derinliğine göre grafiğe yerleştirildiğinde reaktörlerde genel olarak homojen bir organik kütle dağılımı görülmektedir. Bu gözlem biyobariyer boyunca homojen olarak yayılmış biyofilm oluşumunu göstermektedir (Şekil 6.54). Glikoz destekli biyobariyerde oluşan biyofilm kütlesi 28 gram civarındadır. Normal koşullarda işletilen reaktörde 22 gram biyofilm kütleleri gözlenmiştir. Sonuç olarak, glikoz destekli Yerinde Biyolojik İyileştirme (YBİ) biyobariyerde %20 civarında daha fazla biyofilm birikmesine neden olmaktadır. Bariyerin uzun ömürlülüğü açısından bu birikim tercih edilmeyen bir sonuçtur. Ayrıca her bir kolon reaktörün elektron mikroskopta çekilen resmi, Ek-8.'de verilmektedir.

Glikoz ile desteklenen biyobariyerde en yoğun biyofilm oluşumu reaktör girişinde, ilk beş santimetre derinlikte (0-5 cm) gözlenmiştir (Şekil 6.55).

Biyofilmin biyobariyer boyunca azaldığı görülmektedir. Her hangi bir katkının kullanılmadığı ve normal şartlarda çalışan reaktör olarak tanımlanan biyobariyerde ise mikrobiyal birikim reaktör çıkışında oluşmuştur (25-30 cm). Endosulfanın zor parçalanmasının bir göstergesi olan bu dağılım aslında bariyerin derinlemesine kullanımına da imkan vermektedir.



Şekil 6.54. Normal şartlarda endosulfan giderimi yapılan biyobariyerlerde belirlenen biyofilm kütlesi dağılımı.



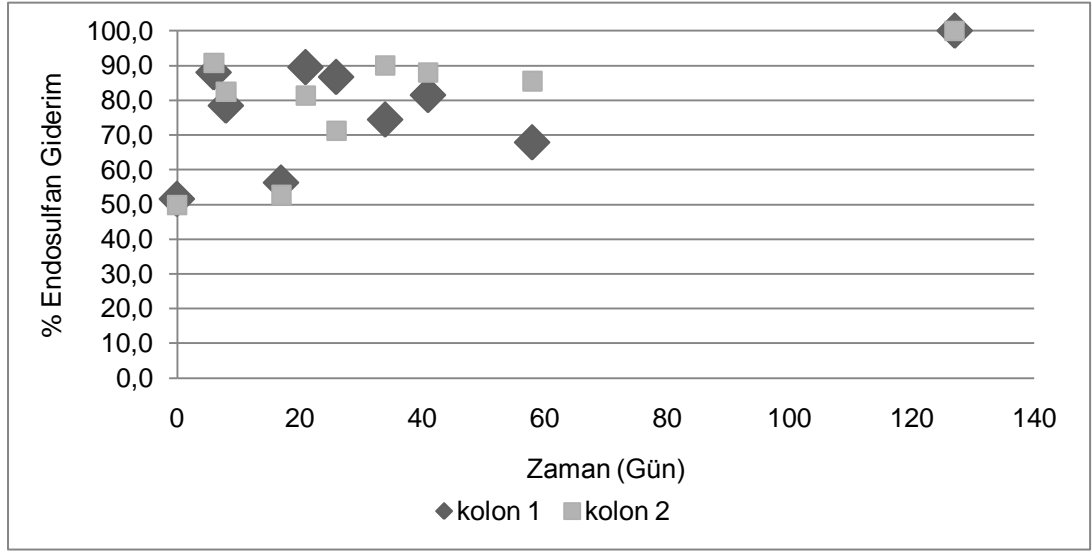
Şekil 6.55. Glikoz eklenerek ve pH kontrollü kullanılan biyobariyerde biyofilm kütle dağılımı.

İlk deney grubunu oluşturan kolon reaktörlerden elde edilen sonuçlar değerlendirildikten sonra ikinci set olarak tanımlanan biyobariyer reaktörlerinde daha uzun süreli çalıştırılan reaktörlerde glikoz kullanılmamıştır ve besi ortamında pH ayarlaması pH=7 olarak yapılmıştır.



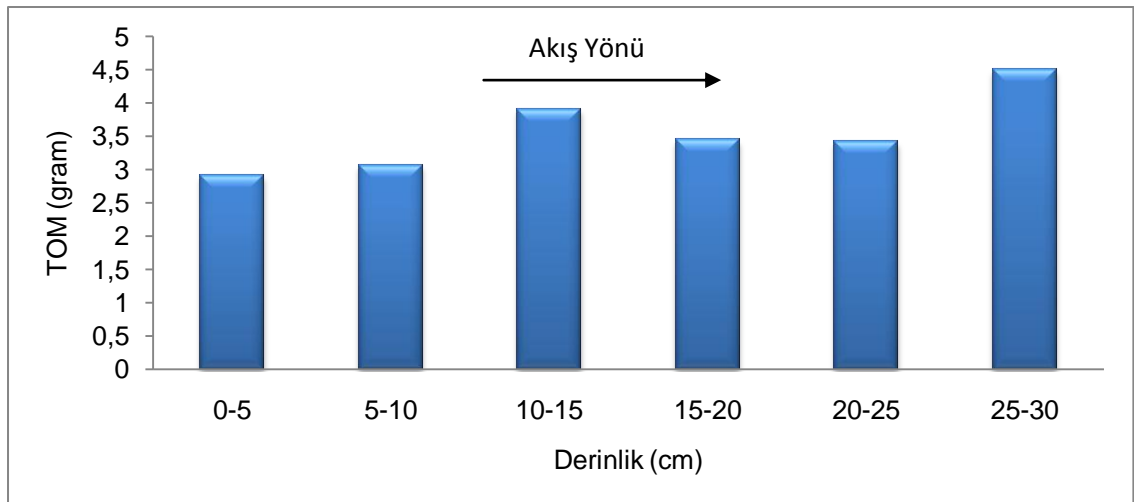
Şekil 6.56. İkinci grup çalışmada kullanılan biyobariyerlerin kaplanmadan önceki görüntüleri.

İkinci grupta yer alan biyobariyerler aynı kaynaktan beslenmişlerdir. Deneyler 5 ay devam etmiştir. Reaktörler çalışmaya başladıktan bir ay sonra %45 olan endosulfan giderimi %80 civarına yükselmiş ve deney süresinin sonunda endosulfan sentetik yeraltı suyundan tamamen giderilmiştir. Deney sonunda bariyerde önemli bir tıkanma gözlenmemiştir. Her iki reaktörde elde edilen endosulfan giderim sonuçları grafik olarak, Şekil 6.57'de verilmiştir.

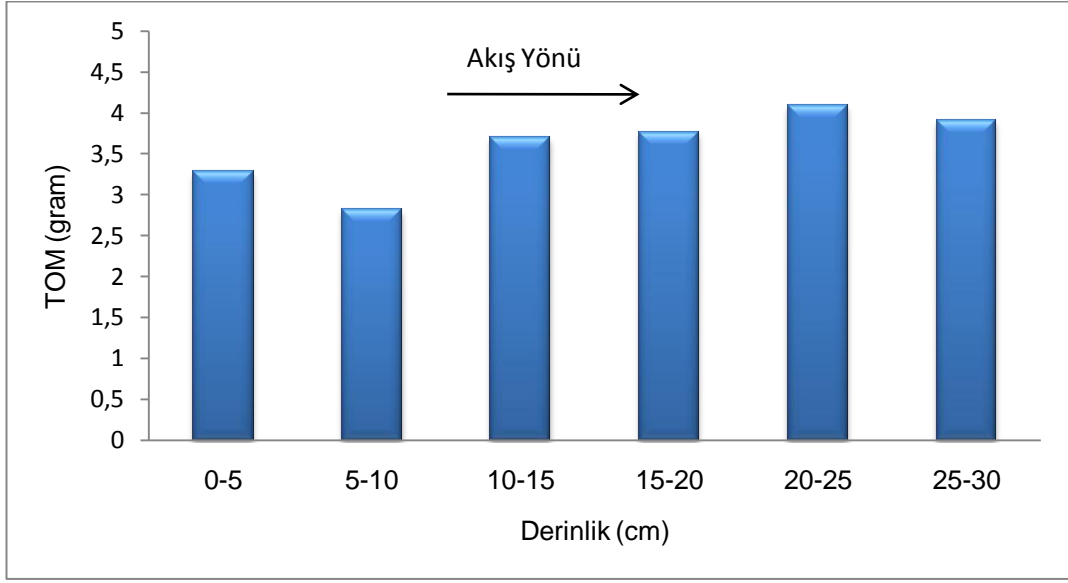


Şekil 6.57. İkinci sette paralel olarak çalıştırılan biyobariyerlerde elde edilen endosulfan giderim sonuçları (%).

İkinci set deney sonunda her iki reaktördeki biyofilm kütleleri belirlendiğinde biyokütle miktarlarının eşit olduğu görülmüştür (Birinci reaktörde 21 g ve ikinci reaktörde 21,2 g). Bu sette elde edilen biyokütle miktarı daha önce “doğal koşullarda” çalıştırılan reaktörde oluşan biyokütle miktarı (22,7 g) ile de uyumludur. Her iki reaktörde de biyokülte birikimi reaktör çıkışına yakın bölgelerde gerçekleşmiştir (Şekil 6.58, Şekil 6.59). Ayrıca her bir kolon reaktörün elektron mikroskopta çekilen resmi, Ek-9.’de verilmektedir.



Şekil 6.58. Set-2 birinci kolon reaktörde derinliğe bağlı olarak biyofilm gelişimi.



Şekil 6.59.Set-2 ikinci kolon reaktörde derinliğe bağlı olarak biyofilm gelişimi.

### 6.3.2.1 İstatistiksel Değerlendirme

Doğal zeolit üzerinde biyofilm gelişimini belirlemek için doğal zeolit üzerindeki bileşimlerin değişimine bakılmıştır. Bu değişimler Bölüm 6.3.2.'de anlatılmıştır. Analiz sonucu edilen bileşiklerin bazıları ( $PO_4$ ,  $Fe_2O_3$ ,  $SO_3$  ve  $Cl$ ) biyofilmden dolayı doğal zeolit ve  $550^{\circ}C$ 'de yandıktan sonra elde edilen zeolit yüzeyinde belirlenemediğinden bu bileşiklerin istatistiksel analizi yapılamamıştır. İstatistiksel olarak ölçümler arasında fark olup olmadığını belirlemek için Anova analizi yapılmıştır.  $Na_2O$ ,  $MgO$ ,  $Al_2O_3$ ,  $SiO_2$ ,  $K_2O$  ve  $CaO$  bileşikleri için istatistiksel analiz yapılmıştır.  $Na_2O$  için Anova analizi sonucu, Çizelge 6.24'de verilmektedir. Analiz sonucunda %95 güvenlilik aralığında  $p < 0,05$  olması istatistiksel olarak fark olduğunu göstermektedir. İstatistiksel olarak hangi ölçüm sonucunda fark olduğunu belirlemek için Çoklu Değişim Aralığı Testi (Multiple Range Test) yapılmıştır. Analiz sonucu, Çizelge 6.25'de verilmektedir göre istatistiksel değerlendirme sonucunda biyofilm kaplı zeolitte  $Na_2O$  bileşiği ile doğal zeolit ve  $550^{\circ}C$ 'de yandıktan sonraki zeolitin kimyasal yapısında değişiklik olduğunu göstermektedir. Doğal zeolit ile  $550^{\circ}C$ 'de yandıktan sonra zeolitin kimyasal yapısında ise istatistiksel olarak fark yoktur. Biyofilm kaplı zeolit ile doğal zeolit ve  $550^{\circ}C$ 'de yandıktan

sonraki zeolitin kimyasal yapısında meydana gelen değişim, zeolitin yüzeyinin biyofilm ile kaplanması veya NaCl ile izleyici test yapılmasından kaynaklanacağı gibi, besi ortamında Na<sup>+</sup> olmasından dolayı da bu bileşiğin zeolit yüzeyinde birikmesine neden olmuş olabilir.

Çizelge 6.24. Na<sub>2</sub>O bileşiği için anova hesabı.

Analysis of Variance					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	18,263	2	9,13148	98,40	0,0000
With in groups	0,5568	6	0,0928		
Total (Corr.)	18,8198	8			

Çizelge 6.25. Na<sub>2</sub>O bileşiği için Çoklu Değişim Aralığı Testi (Multiple Range Tests) analizi.

Method: 95,0 percent LSD			
Kesikli Reaktörler	Count	Mean	Homogeneous Groups
YBZ	3	0,0266667	X
DZ	3	0,0633333	X
BZ	3	3,06667	X
Contrast		Difference	+/- Limits
BZ-DZ		*3,00333	0,608622
BZ-YBZ		*3,04	0,608622
DZ - YBZ		0,0366667	0,608622

\* istatistiksel olarak datalar arasındaki farklılığı göstermektedir. DZ: Doğal zeolit, BZ: Üzerinde biyofilm gelişen zeolit, YBZ: Üzerinde biyofilm gelişen zeolit 550<sup>o</sup>C'de yandıktan sonra

Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> için Anova analizi sonucu, Çizelge 6.26.'da verilmektedir. Analiz sonucunda %95 güvenlilik aralığında p<0,05 olması istatistiksel olarak fark olmadığını göstermektedir. Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> doğal zeolitin yapısında vardır. Biyofilm kaplı zeolitte Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> olması beklenmemektedir.

Çizelge 6.26. Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> bileşiği için anova analizi.

Analysis of Variance					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	3,18607	2	1,59303	2,24	0,1875
With in groups	4,26433	6	0,710722		
Total (Corr.)	7,4504	8			

SiO<sub>2</sub> için anova analizi sonucu, Çizelge 6.27.'de verilmektedir. Analiz sonucunda %95 güvenlilik aralığında p<0,05 olması istatistiksel olarak fark olduğunu göstermektedir. İstatistiksel olarak hangi ölçüm sonucunda fark olduğunu belirlemek için Çoklu Değişim Aralığı Testi (Multiple Range Test) yapılmıştır. Analiz sonucu, Çizelge 6.27.'de verilmektedir. Çizelge 6.28.'e göre istatistiksel olarak değerlendirme sonucunda biyofilm kaplı zeolitte SiO<sub>2</sub> bileşiği ile doğal zeolit ve 550<sup>0</sup>C'de yandıktan sonraki zeolitin kimyasal yapısında değişiklik olduğunu göstermektedir. Doğal zeolit ile 550<sup>0</sup>C'de yandıktan sonra zeolitin kimyasal yapısında ise istatistiksel olarak fark yoktur. Biyofilm kaplı zeolit ile doğal zeolit ve 550<sup>0</sup>C'de yandıktan sonraki zeolitin kimyasal yapısında meydana gelen değişim, zeolitin yüzeyinin biyofilm ile kaplanması sonucu elektro manyetik sinyallerin biyofilmden dolayı zeolit yüzeyine ulaşmamasından dolayı olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 6.27. SiO<sub>2</sub> bileşiği için anova analizi.

Analysis of Variance					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	829,664	2	414,832	936,86	0,0000
With in groups	2,65673	6	0,442789		
Total (Corr.)	832,321	8			

Çizelge 6.28. SiO<sub>2</sub> bileşiği için Çoklu Değişim Aralığı Testi (Multiple Range Tests) analizi.

Method: 95,0 percent LSD			
Kesikli Reaktörler	Count	Mean	Homogeneous Groups
YBZ	3	75,1633	X
DZ	3	80,3633	X
BZ	3	57,9	X
Contrast		Difference	+/- Limits
BZ-DZ		*-22,4633	1,32945
BZ-YBZ		*-17,2633	1,32945
DZ - YBZ		*5,2	1,32945

\* istatistiksel olarak datalar arasındaki farklılığı göstermektedir. DZ: Doğal zeolit, BZ: Üzerinde biyofilm gelişen zeolit , YBZ: Üzerinde biyofilm gelişen zeolit 550<sup>0</sup>C'de yandıktan sonra

K<sub>2</sub>O için Anova analizi sonucu Çizelge 6.29.'de verilmektedir. Analiz sonucunda %95 güvenlilik aralığında p<0,05 olması istatistiksel olarak fark olduğunu göstermektedir. İstatistiksel olarak hangi ölçüm sonucunda fark olduğunu belirlemek için Çoklu Değişim Aralığı Testi (Multiple Range Test) yapılmıştır. Analiz sonucu Çizelge 6.30.'de verilmektedir. Çizelge 6.30'e göre istatistiksel değerlendirme sonucunda biyofilm kaplı zeolitte K<sub>2</sub>O bileşiği ile doğal zeolit ve 550<sup>0</sup>C'de yandıktan sonraki zeolitin kimyasal yapısında değişiklik olduğunu göstermektedir. Bu fark biyofilmden dolayı olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 6.29. K<sub>2</sub>O bileşiği için anova analizi.

Analysis of Variance					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	9,59287	2	4,79643	22,08	0,0017
With in groups	1,30353	6	0,217256		
Total (Corr.)	10,8964	8			

Çizelge 6.30. K<sub>2</sub>O bileşiği için Çoklu Değişim Aralığı Testi (Multiple Range Tests) analizi.

Method: 95,0 percent LSD			
Kesikli Reaktörler	Count	Mean	Homogeneous Groups
YBZ	3	1,14667	X
DZ	3	2,62	X
BZ	3	3,66333	X
Contrast		Difference	+/- Limits
BZ-DZ		*-1,47333	0,931235
BZ-YBZ		*-2,51667	0,931235
DZ - YBZ		*-1,04333	0,931235

\* istatistiksel olarak datalar arasındaki farklılığı göstermektedir. DZ: Doğal zaolit, BZ: Üzerinde biyofilm gelişen zeolit ,YBZ: Üzerinde biyofilm gelişen zeolit 550<sup>0</sup>C'de yandıktan sonra

### 6.3.2.2 Endosulfan Giderimi Sırasında Biyobariyerde Değişen Hidrodinamik Koşulların Değerlendirilmesi

Biyobariyerdeki hidrodinamik şartlar zeolit dolgu maddesinin yüzeylerine biyofilm birikimi ile birlikte değişmiştir. Bu değişim aylık periyotlarda yapılan iz madde testleri ile takip edilmiştir. Biyobariyer tek yönlü akış için tasarlanmıştır ve laminar akış koşulları deneyler süresince değişmemiştir. Laminar akış koşulları sistemin Reynolds Sayısı (*Re*) hesaplanarak kontrol edilmiştir. Sistemin *Re* sayısının 1,85 olması Darcy kanunun deneyler sırasında geçerli olduğunu göstermektedir.

$$Re= D*V*\rho /\mu (1-\varepsilon) \quad (6.5)$$

Burada; D özgül boyutu (cm), V akış hızını (cm/s),  $\rho$  akışkan yoğunlunu (g/cm<sup>3</sup>) ,  $\mu$  dinamik viskozite (g/cm\*s)'yi,  $\varepsilon$  porositeyi göstermektedir.

Kolon reaktörün işletim şartları

V (Akış hızı)= 0,005 cm/s

D= 0,7 mm

$\mu$  dinamik vizkosite (g/cm\*s)= 0,00891

Re=1,85

Biyofilmin gözenekli yapıda gelişimi farklı modeller kullanılarak tanımlanmaktadır. Bunlardan en yaygın olarak kullanılanlardan birisi 1991 yılında Cunningham'ın geliştirdiği ve gözenekli yapıdaki "etkin porosite" değişimini ile biyofilm gelişimini ilişkilendiren modeldir. Bu modelde sistemde homojen biyofilm dağılımı olduğu ve gözenekli ortamda biyofilm gelişimi laminar akış bölgesini daraltmakta, gözenek içinde akışkan daha uzun süre kalmaktadır. Sisteme iki aşamalı akış olarak yansıyan bu değişim iz madde ile yapılan takiplerde uzun geri çekilme kuyukları olarak yansımaktadır (Cunningham vd, 1991).

Cunningham'ın geliştirdiği modele ait denklemler aşağıda denklem 6.6 ve 6.7'de verilmektedir.

$$v = -K \frac{dh}{dl} \quad (\text{Darcy Kanunu}) \quad (6.6)$$

Burada,

$v$ =Akış hızı,

$k$ = hidrolik iletkenlik,

$dh/dl$  = Hidrolik eğim,

$$\alpha = K_v/g \quad (\text{Ortam Porozitesi}) \quad (6.7)$$

Biyobariyer sisteminin iz madde çalışmaları sırasında Cunningham yaklaşımı kullanılarak biyofilm oluşmadan önce hesaplanan yük kaybı 0,1 cm'dir. Bu yük kaybı biyofilm oluşumu ile birlikte %5'e varan gözenek tıkanmaları ile birlikte 0,97 cm'e kadar çıkmaktadır. Model kullanılarak yapılan hesaplar aşağıda Çizelge 6.31'de verilmiştir.

Çizelge 6.31. Biyobariyer porositesinde görülen azalmanın sistemdeki yük kaybına olan etkisi

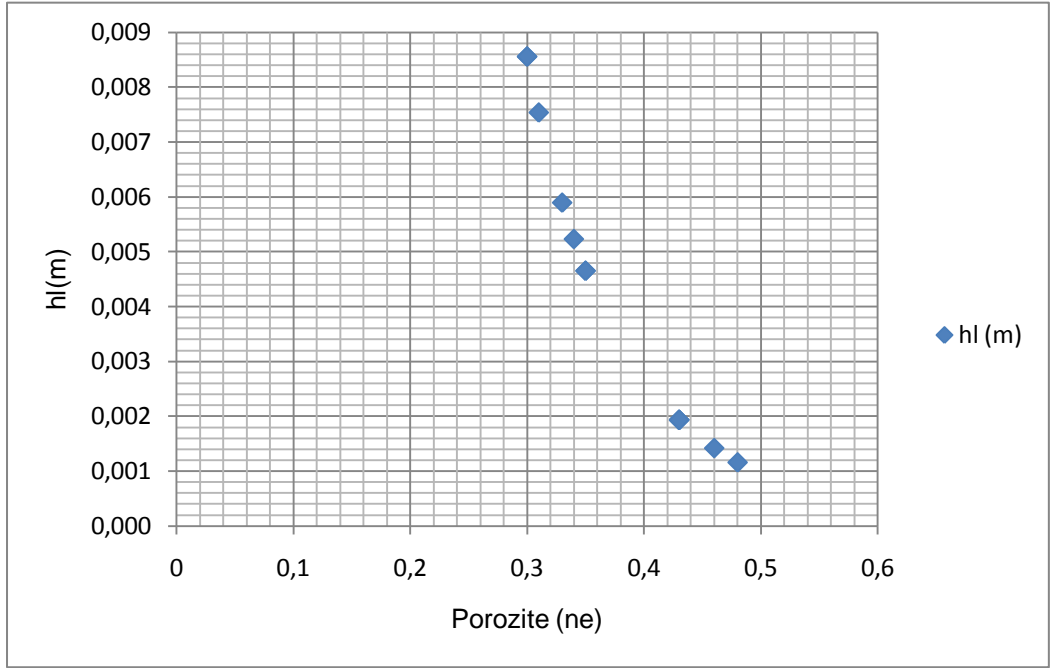
Porositedeki azalma (%)	0	1	2	3	4
Etkin Porosite (-)	0,48	0,46	0,41	0,36	0,29
Akış sırasındaki yük kaybı (cm)	0,1	0,14	0,23	0,4	0,97

Endosulfan giderimi sırasında oluşacağı belirlenen etkin gözenek tıkanması, iz madde çalışmaları sırasında kullanılan debiler kullanılırsa, sisteme 3,24 cm'lik bir yük kaybı getirmektedir. Bu yük kaybı, biyobariyerin normal akış şartlarında ( $3,04 \times 10^{-4} \text{ cms}^{-1}$ ) ve %90 varan porozite tıkanmalarında  $4,7 \times 10^{-3}$  cm olarak hesaplanmıştır.

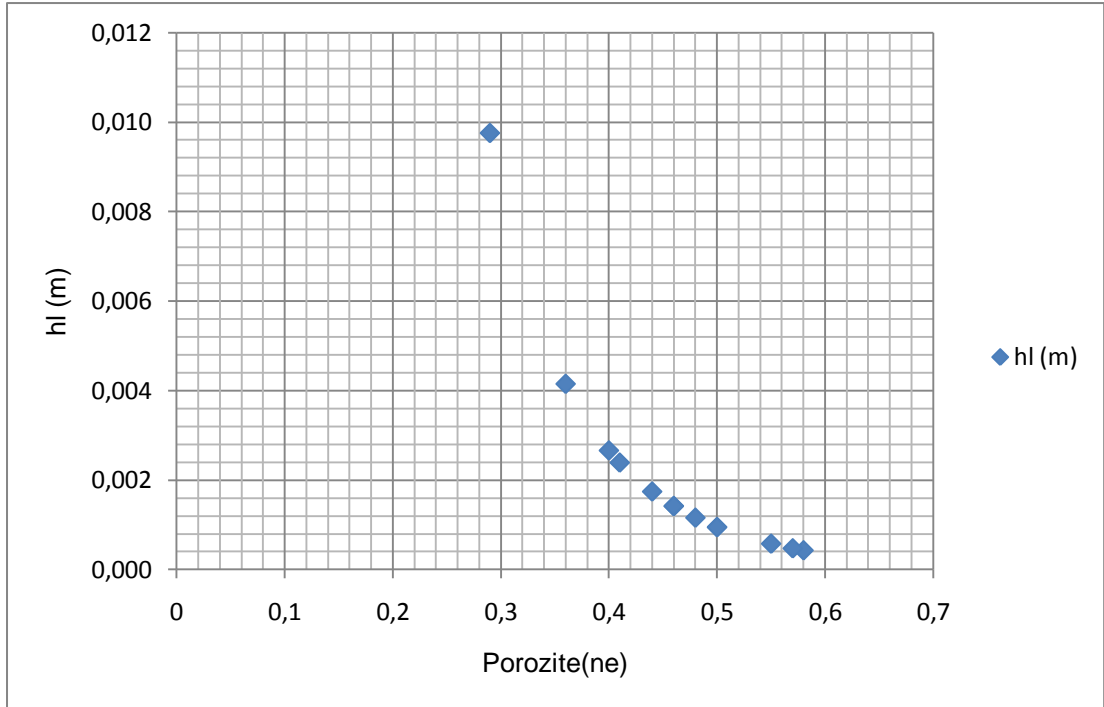
Çizelge 6.32. Kolon reaktörün hidrodinamik koşulları

Akış hızı (cm/sn) = 23ml/4560s	0,005
Özgül Debi (cm/sn) = $Q/A = -Kdh/dl$	$7,5 \cdot 10^{-5}$
Kolon iç çapı = 4,6 cm	4,6
$A = (\text{cm}^2)$	16,61
$g$ (yerçekimi kuvveti) $\text{m s}^{-2}$	9,81
$\alpha$ (porosity)	0,54
$n$ (kinematik vizkozite) $\text{m}^2 / \text{s}$ ( $1.004 \times 10^{-6}$ )	0,001
NR (Gözenekli ortam reynolds sayısı)	1,85
$q$ = Şekil faktörü (genellikle 1)	1
$f$ (gözenekli ortam şekil faktörü)	4225
$hl$ = yük kaybı (m)	0,003
$d$ (mm) (diameter of media particles)(zeolit)	700
$L$ (Kolon Boyu)	33 cm

Porozitede görülen değişim (azalma) modele yerleştirildiğinde, sistemde artan yük kayıpları hesaplanabilmektedir. Bu hesap sonuçları; Şekil 6.60 ve Şekil 6.61'de grafik olarak gösterilmektedir.



Şekil 6.60. Kolon 1 için yük kaybı grafiği.



Şekil 6.61. Kolon 2 için yük kaybı grafiği.

Bu sonuçlar aşağıdaki genel taşınım denklemine de aktarılabilir. Denklemin çözümünü zorlaştıran biyofilm gelişmesine bağlı değişen gözeneklilikteki

değişkenliktir. Biyofilm modellemesi için farklı yaklaşımlar ortaya konmasına rağmen henüz yaygın olarak kabul gören bir denklem üzerinde bulunmamıştır.

Taşıyım denklemi, difüzyon, adveksiyon, tutuklanma ve reaksiyon proseslerini içerecek şekilde tek boyutlu yazılır ise;

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D_L \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} - V_x \frac{\partial C}{\partial x} - \frac{B_d}{\phi} \frac{\partial C^*}{\partial t} - \left( \frac{dC}{dt} \right)_{rxn}$$

Burada:

C: Endosulfan konsantrasyonunu

C\*: Yüzeyde birikim

DL: Dispersiyon katsayısını

Vx: Yeraltı suyu ortalama akış hızını

Bd: Dolgu malzemesi yoğunluğunu

Ø: Gözeneklilik

Denklemin sağ yarısındaki ilk terim dispersiyondan, ikinci terim adveksiyondan kaynaklanan taşıyımı, üçüncü terim yüzeyde tutuklanma ve dördüncü terim de reaksiyon sonucu giderilen endosülfanın, toplam endosülfan konsantrasyonunun zamana bağlı değişimini ifade etmektedir. Bu tez çalışmasında elde edilen veriler; efektif porozitedeki değişme, ortalama su hızı, reaksiyon kinetikleri yüzeye tutuklanma mekanizmaları tam olarak tanımlandıktan sonra aşağıda genel hali verilmiş olan kütle taşıyım denklemlerinin oluşturulmasında ve çözülmesinde kullanılabilir.

## 7. GENEL SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Endosulfan, yeraltı suyu ve toprak ekolojilerinde kalıcı kirlilik yaratmaktadır. Yayılı kirlilik ancak doğal mikroorganizma grupları ile yerinde kontrol edilebilir veya arıtılabilir. Tez çalışması sonunda elde edilen bir dizi sonuç aşağıda özetlenmiştir.

1. Endosulfan kirleticisinin kullanılmadığı topraklardan üç tür bakteri izole edilmiştir. Bakteri kültürü elde etmek için kültür zenginleştirme tekniği uygulanarak, farklı tarımsal uygulamaların yapıldığı topraklar kullanılmıştır. Kültür zenginleştirme tekniği çalışması sonucunda üzerinde çay yetiştirilen tarım toprağından karışık bakteri türü elde edilmiştir. Elde edilen bakteri kültürlerinin izolasyonu yapılarak üç tür bakteri elde edilmiştir. Çalışmalar karışık bakteri türü olarak çalışılmıştır.
2. Bakteri kültürlerinin PCR tekniği kullanılarak tanımlaması yapılmıştır. Tanımlama sonucunda, toprakta, temiz su ve deniz suyu çevresinde bulunan *Sphingomonas yanoikuyae* Q1, doğal çevrede yaygın olarak bulunan ve toprak, toz, temiz su, göl sedimentinden izole edilebilen *Methylobacterium rhodesianum* ve *Afipia Genosp* türleri elde edilmiştir. Bakteri türlerinin üçü de gram negatif bakterilerdir. Bu bakteriler ile literatürde, pestisit ve endosulfan giderimi ile ilgili çalışma yapılmamıştır.
3. Bakteri türlerinin pek çoğu, tek sülfür kaynağı olarak endosulfanı kullanmakta, endosulfan ve izomerlerini metabolitlere parçalayabilmektedir (Katayama ve Matsumura 1993; Mukherjee ve Gopal 1994; Kullman ve Matsumura 1996). Çalışmada bakterilerin endosulfanı sülfür kaynağı olarak kullanması ve endosulfanın toksik bir parçalanma oranı olan endosulfan sülfat oluşumunu engellemek için sülfürsüz mineral besi çözeltisi kullanılmıştır. Bu şekilde bakterilerin endosulfan sülfat parçalanma ürünü oluşturmadığı düşünülmektedir.

4. Bakteri türlerinin endosulfanın parçalanma kinetikleri belirlenebilmesi için, kesikli deneyler yapılmıştır. Çalışmalarda, izole edilen bakteriler karışık kültür olarak kullanılmıştır. Endosulfanın biyolojik parçalanması için fotodegradasyon, pH ve ek karbon kaynağı etkisi araştırılmıştır. Çalışmalar sonucunda, fotodegradasyonun alfa endosulfanın parçalanması üzerinde %8, beta endosulfanın parçalanması %14, toplam endosulfanın parçalanmasında %12 etkisi olduğu hesaplanmıştır.
5. Endosulfan parçalanmasının alkali koşullarda, daha verimli olduğu ve ek karbon kaynağı olarak kullanılan glikozun endosulfanın parçalanmasına etkisi olmadığı sonucuna varılmıştır. Glikozun endosulfan parçalanmasında etkili olmamasının nedeni olarak mikroorganizmaların öncelikle glikozu karbon kaynağı olarak kullanmasından dolayıdır.
6. Karışık mikroorganizma kültürünün, endosulfanın alfa beta izomerini eşit derecede parçalayabildiği belirlenmiştir.
7. Dolgulu kolon reaktör de, mikroorganizmanın tutunma yüzeyi olarak kullanılan Manisa (Gördes) yöresi doğal zeoliti kullanılarak biyobariyer oluşturulmuştur. Kolon reaktörde, endosulfan kirleticinin olduğu mineral pH=6,5±2 besi ile çalışmalar yapılmıştır. pH=8,4 alkali değerinde ek karbon kaynağı olarak glikoz kullanılarak biyobariyer oluşturulmuş endosulfan giderim verimi belirlenmiştir. Biobariyer çalışması sonucunda 7 ay sonunda endosulfanın her iki izomerinde % 100 oranında parçalandığı belirlenmiştir. Zeolitin etkin bir biyobariyer malzemesi olduğu gösterilmiştir.
8. Zeolit üzerinde oluşan biyobariyerin kimyasal karakterizasyonu elektron taramalı x-Ray spektrofotometresinde gösterilmiştir. Bu amaçla, doğal zeolit, kolon reaktörde biyofilm gelişen zeolit ve biyofilm gelişen zeolitin 550°C'de yakılmasından sonraki elektron taramalı x-Ray spektrofotometresinde kimyasal karakterizasyon sonuçlarına bakılmıştır.

Biyofilm oluşumuna karar vermek için fosfor azot, demir ve kükürt iyonlarına bakıldığında, doğal zeolitte ve biyofilm kaplı doğal zeolitin 550<sup>0</sup>C'de yanmasından sonra elemental analizi yapıldığında, bu iyonların belirlenemediğini görüyoruz. Bu sonuç zeolit yüzeyinde biyobariyer oluşumu doğruladığı sonucunu vermektedir.

Bu alışma kapsamında elde edilen sonuçların daha ileri seviyelere götürülebilmesi için aşağıdaki öneriler sunulmaktadır.

- 1) Topraktan izole edilen *Sphingomonas yanoikuyae* Q1, *Methylobacterium rhodesianum* ve *Afipia Genosp* türlerinin enzimatik özelliklerinin belirlenmesi
- 2) Endosulfanın biyolojik parçalanma mekanizmasının araştırılması
- 3) Biyobariyer oluşumu sonucunda zeolit yüzeyindeki değişimin belirlenmesi
- 4) Uzun süreli çalışmalarda biyofilmin dayanıklılığı, biyobariyerin performansı değerlendirilmelidir.

## KAYNAKLAR

- Aaronson, S., 1989, Enrichment culture, CRC Practical Handbook of Microbiology, O'Leary, W., Ed., CRC Press, Boca Raton, FL, 337s.
- Al-Hassan, R.M., Bashour, I.I., Kawar, N.S., 2004, Biodegradation of  $\alpha$  and  $\beta$  Endosulfan in Soil as Influenced by Application of Different Organic Materials, Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes, Volume 39, Numbers 5-6, 757-764.
- Alvarez, P.J., Illman, W.A., 2006, Bioremediation and Natural Attenuation: Process Fundamentals and Mathematical Models, John Wiley & Sons, 609s.
- American Public Health Association (APHA), American Water Works Association, and Water Environment Federation, 1998, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th Edition. United Book Press, Inc. Baltimore, MD, 1216s.
- Arshad, M., Hussain, S., Saleem, M., 2008, Optimization of environmental parameters for biodegradation of alpha and beta endosulfan in soil slurry by *Pseudomonas aeruginosa*, J. Appl Microbiol., 104(2):364-370.
- Aslan, Ş., Türkman, A., 2004, Simultaneous biological removal of endosulfan ( $\alpha$ + $\beta$ ) and nitrates from drinking waters using wheat straw as substrate, Environment International 30, 449– 455.
- Aslan, Ş., Türkman, A., 2006, Nitrate and Pesticides Removal From Contaminated Water Using Bionitrification Reactor, Process Biochemistry 41, 882–886.
- Atasoy, A.D., Mermut, A.R., Kumbur, H., İnce, F., Arslan, H., Avcı, E.D., 2009, Sorption of alpha and beta hydrophobic endosulfan in a Vertisol from southeast region of Turkey, Chemosphere, Volume 74, Issue 11, 1450-1456.
- Atlas, R.M., 2005, Handbook of Media for Environmental Microbiology, Second Edition, Taylor&Francis Group, CRC Press, 673s.
- ATSDR, 1990, Toxicological profile for alpha- and beta-endosulfan. United States Public Health Service.
- ATSDR, 2000, Toxicological Profile For Endosulfan, U.S. Department Of Health and Human Services Public Health Service Agency For Toxic Substances and Disease Registry, 323s.

- Awasthi, N., Ahuja, R., Kumar, A., 2000, Factors influencing the degradation of soil-applied endosulfan isomers, *Soil Biology & Biochemistry* 32, 1697-1705.
- Awasthi, N., Kumar, A., Makkar, R., Cameotra, S.S., 1999, Biodegradation of soil-applied endosulfan in the presence of a biosurfactant, *Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, Volume 34, Issue 5, 793-803.
- Awasthi, N., Manickam, N., Kumar, A., 1997, Biodegradation of Endosulfan by a Bacterial Coculture, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, Volume 59, Number 6, 928-934.
- Awasthi, N., Singh, A.K., Jain, R.K., Khangarot, B.S., Kumar, A., 2003, Degradation and detoxification of endosulfan isomers by a defined co-culture of two *Bacillus* strains, *Applied Microbiol. Biotechnol.*, 62: 279-283.
- Ayas, A., Ekmekci, G., Ozmen, M., Yerli, S.V., 2007, Histopathological changes in the livers and kidneys of fish in Sariyar Reservoir, Turkey, *Environmental Toxicology and Pharmacology* 23, 242–249.
- Ayres, R.U., Ayres, L.W., 2000, The life cycle of chlorine, Part IV: Accounting for persistent cyclic organochlorines, *J. Ind. Ecol.* 4, 121–159.
- Bajaj, A., Pathak, A., Mudiam, M.R., Mayilraj, S., Manickam, N., 2010, Isolation and characterization of a *Pseudomonas* sp. strain IITR01 capable of degrading  $\alpha$ -endosulfan and endosulfan sulfate, *Journal of Applied Microbiology*, Volume 109, Issue 6, 2135–2143.
- Banasiak, L.J., Bruggen, B.V., Schafer, A.I., 2011, Sorption of pesticide endosulfan by electro dialysis membranes, *Chemical Engineering Journal*, 233-239.
- Barlas, N., 2007, Tarım İlaçlarının Çevreye Olan Etkileri- Türkiye’de Durum, Tarım İlaçları Kongre ve Sergisi, TMMOB Kimya ve Ziraat Mühendisleri Odaları. Bildiri Kitabı, 277-293.
- Barlas., N., Cok, I., Akbulut, N., 2006, The Contamination levels of organochlorine pesticides in water and sediment samples in Uluabat Lake, Turkey, *Environ Monit. Assess.* 118, 383–391.
- Başpınar, H., Durmuşoğlu, E., Yıldırım, M., 2009, Türkiye’ de Tarım İlaçları Üretim Ve Kullanımı, [www.zmo.org.tr](http://www.zmo.org.tr), Erişim Tarihi: 01.01.2011
- Benson, H.J., 2002, Appendix A. In: *Microbiological applications: laboratory manual in general microbiology*, 8th edition. McGraw Hill, Boston, Massachusetts, 432s.

- Bergey, D.H., Holt, J.G., 1994, *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Lippincott Williams & Wilkins, 787s.
- Bhalerao, T.S., Puranik, P.R., 2007, Biodegradation of organochlorine pesticide, endosulfan, by a fungal soil isolate, *Aspergillus niger*, *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 59 (4), 315–321.
- Birben, E., 2006, Polimeraz Zincir Reaksiyonu, *Astım Allerji İmmünoloji*, 4(2):92-94.
- Bodour, A.A., Wang, J.M., Brusseau, M.L., Maier, R.M., 2003, Temporal change in culturable phenanthrene degraders in response to long-term exposure to phenanthrene in a soil column system, *Environ. Microbiol.* 5, 888–895.
- Boopathy, R., 2000, Factors limiting bioremediation Technologies, *Bioresource Technology* 74, 63-67.
- Bozlaker, A., 2008, A Study of Semi-volatile Toxic Organic Air Pollutants in Aliaga Heavy Industrial Region, Ph.D. Thesis, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Dokuz Eylül University, Izmir.
- Brandt, V.A., Moon, S., Ehlers, J., Methner, M.M., Struttman, T., 2001, Exposure to endosulfan in farmers: two case studies, *American Journal Of Industrial Medicine*, 39(6):643-649.
- Brenner, D.J., Hollis, D.G., Moss, C.W., English, C.K., Hall, G.S., Vincent, J., Radosevic, J., Birkness, K.A., Bibb, W.F., Quinn, F.D., Swaminathan, B., Weaver, R.E., Reeves, M.W., Steven P. O'connor, S.P., Hayes, P.S., Tenover, F.C., Steigerwalt, A.G., Perkins, B.A., Daneshvar, M.I., Hill, B.C., Washington, J.A., Woods, T.C., Hunter, S.B., Hadfield, T.L., Ajello, G.W., Kaufmann, A.F., Wear, D.J., Wenger, J.D. 1991, Proposal of *Afipia* gen. nov., with *Afipia felis* sp. nov. (formerly the cat scratch disease bacillus), *Afipia clevelandensis* sp. nov. (formerly the Cleveland Clinic Foundation strain), *Afipia broomeae* sp. nov., and three unnamed genospecies, *J Clin Microbiol.* Nov;29(11):2450-2460.
- Broomhall, S.D., 2004, Egg temperature modifies predator avoidance and the effects of the insecticide endosulfan on tadpoles of an Australian frog, *Journal of Applied Ecology*, 41, 105–113.
- Bulut, S., Akkaya, L., Gok, V., Konuk, M., 2010, Organochlorine Pesticide Residues in Butter and Kaymak in Afyonkarahisar, Turkey, *Journal Of Animal And Veterinary Advances*, 9(22), 2797-2801.
- Campos, M.G., Pereira, P., Roseiro, J.C., 2006, Packed-bed reactor for the integrated biodegradation of cyanide and formamide by immobilised

*Fusarium oxysporum* CCMI 876 and *Methylobacterium* sp. RXMCCMI908, Enzyme and Microbial Technology, Volume 38, Issue 6, 848-854.

Case, 2010, Hydrolysis of Endosulfan, [www.ces.clemson.edu/ecl/caseStudy/case2.pdf](http://www.ces.clemson.edu/ecl/caseStudy/case2.pdf). Erişim Tarihi: 10.10.2010.

Charpentier, B.M.C., Dimitrov, D.T., Kojouharov, H.V., 2009, Numerical simulation of multi-species biofilms in porous media for different kinetics, Mathematics and Computers in Simulation, Volume 79, Issue 6, 1846-1861.

Charpentier, B.M.C., Kojouharov, H.V., 2003, Numerical simulation of dual-species biofilms in porous media, Applied Numerical Mathematics, Volume 47, Issues 3-4, 377-389.

Chen, X., 1990, The pesticides production in China, towards high efficient and more secure, Pesticides 29s.

Choi, J.H., Kim, Y.H., Choi, S.J., 2007, Reductive dechlorination and biodegradation of 2,4,6-trichlorophenol using sequential permeable reactive barriers: Laboratory studies, Chemosphere, Volume 67, Issue 8, 1551-1557.

Cincinelli, A., Martellini, T., Bubba, M.D., Lepri, L., Corsolini, S., Borghesi, N., King, M.D., Dickhut, R.M., 2009, Organochlorine pesticide air–water exchange and bioconcentration in krill in the Ross Sea, Environ. Pollut. 157, 2153–2158.

Cindoruk, S.S., 2011, Atmospheric organochlorine pesticide (OCP) levels in a metropolitan city in Turkey, Chemosphere, Volume 82, Issue 1, 78-87.

Coella, N., Luis, V., 2002, Kocuria Rosea as a New Feather Degradaing Bacteria, eds:Duriex, A.,Simon, J.P., Aplied Microbiology, Volume 2, 165-175.

Cotham, W.E.J., Bidleman, T.F., 1989, Degradation of malathion, endosulfan and fenvelarate in sea water and sea water/sediment in microcosms, J. Agric. Food Chem., 37:824–828.

Cunningham, A.B., Characklls, W.G., Abedeen, F., Crawford, D., 1991, Influence of Biofilm Accumulation on Porous Media Hydrodynamics, Environ. Sci. Technol., 25, 1305-1311.

ÇOB, 2008, Kalıcı Organik Kirleticilere (KOK'lar) İlişkin Stockholm Sözleşmesi İçin Ulusal Uygulama Planı, Proje No. GF/TUR/03/008, 247s.

- Çok, İ., Durmaz, T.C., Durmaz, E., Satiroglu, M.H., Kabukcu, C., 2010, Determination of organochlorine pesticide and polychlorinated biphenyl levels in adipose tissue of infertile men. *Environ Monit Assess*, 162:301–309.
- Çok, İ., 2007, Kalıcı Özellikteki Tarım İlaçlarının Çevredeki Düzeylerinin Zamana Bağlı Değişimlerinin İzlenmesi, Türkiye'deki Durum, Tarım İlaçları Kongre ve Sergisi, TMMOB Kimya ve Ziraat Mühendisleri Odaları. Bildiri Kitabı, 264-272.
- Delen, N., 2008, Fungisitler, Nobel Yayınevi, İzmir.
- Dinham, B., 1993, The Pesticide Hazard: A global health and environmental audit, Zed Books, London and New Jersey, 87-88.
- DPT, 2007, Gıda Güvenliği, Bitki Ve Hayvan Sağlığı Özel İhtisas Komisyonu, 9. Kalkınma Planı (2007-2013), 140s.
- Durukan, P., Ozdemir, C., Coskun, R., Ikizceli, I., Esmoğlu, A., Kurtoglu, S., Guven, M., 2009, Experiences with endosulfan mass poisoning in rural areas, *European Journal Of Emergency Medicine*, 16(1), 53-56.
- Dutta, H.M., Misquitta, D., Khan, S., 2006, The effects of endosulfan on the testes of bluegill fish, *Lepomis macrochirus*: a histopathological study, *Arch. Environ. Contam. Toxicol* 51, 149–156.
- Ebigbo, A., Helmig, R., Cunningham, A.B., Class, H., Gerlach, R., 2010, Modelling biofilm growth in the presence of carbon dioxide and water flow in the subsurface, *Advances in Water Resources*, Volume 33, Issue 7, 762-781.
- Ebihara, T., Bishop, P.L., 1999, Biofilm Structural Forms Utilized in Bioremediation of Organic Compounds, *Wat. Sci. Tech.*, Vol.39, No.7, 203-210.
- El Beit, I.O.D., Wheelock, J.V., Cotton, D.E., 1981, Factors involved in the dynamics of pesticides in soils: The effect of pesticide concentration on leachability and adsorption, *Int. J. Environ. Stud.*, 16:181-187.
- Elsaid, O.E.G., Abdelbagi, A.O., Elsheikh, E.A.E., 2010, Microbial Degradation of Endosulfan in Carbon Free Media and Selective Media, *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences* 6(3): 257-562.
- Elzorgani, G.A., Omer, M.E.H., 1974, Metabolism of endosulfan isomers by *Aspergillus niger*, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 12, 182–185.
- ENB, 2008, Summary Of The Fourth Meeting Of The Persistent Organic Pollutants Review Committee Of The Stockholm Convention, Earth

- EPA Method 508.1., Determination of Chlorinated Pesticides, Herbicides, and Organohalides by Liquid-Solid Extraction and Electron Capture Gas Chromatography -Revision 2.0.38s.
- EPA, 1979, Water-related environmental fate of 129 priority pollutants. Vol. I: Introduction and technical background, metals and inorganics, pesticides and PCB's. Washington, DC: U.S., 667s.
- EPA, 1982, Aquatic fate process data for organic priority pollutants. Final report, Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency. EPA-440/4-81-014.
- EPA, 2002, Reregistration Eligibility Decision for Endosulfan, 249s.
- Ersoy, B., Demir, C., Çelik, M.S., 2001, Klinoptilolitin HTAB Adsorpsiyonuna Farklı Katyon Formlarının Ve Farklı Değerlikli Tuzların Etkisi, Endüstriyel Hammaddeler Sempozyumu 4, 292-298.
- Estevez, A.M., Periago, E.L., Carballo, E.M., Gandara, J.S., Mejuto, J.C., Rio, L.G., 2008, The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources, Agriculture, Ecosystems & Environment, Volume 123, Issue 4, 247- 260.
- EXTOXNET, 1996, Extension Toxicology Network Pesticide Information Profiles:
- FAO, 2000, Assessing soil contamination a reference manual FAO Pesticide Disposal Series 8, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy, 131–132.
- FAO, 2006, Endosulfan,  
[http://www.fao.org/ag/AGP/AGPP/Pesticid/JMPR/Download/2006\\_re\\_p/Endosulfan.pdf](http://www.fao.org/ag/AGP/AGPP/Pesticid/JMPR/Download/2006_re_p/Endosulfan.pdf)., Erişim Tarihi: 10.01.2011
- Farhadian, M., Vachelard, C., Duchez, D., Larroche, C., 2008, In situ bioremediation of monoaromatic pollutants in groundwater: A review, Bioresource Technology, Volume 99, Issue 13, 5296-5308.
- Felsenstein, J., 1985, Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap, Evolution 39, 783-791.
- Feng, X., Ou, L., Ogram, A., 1997, Plasmid-mediated mineralization of carbofuran by *Sphingomonas* sp. strain CF06, Appl. Environ. Microbiol. 63, 1332–1337.

- Fernandez, P., Grimalt, J.O., 2003, On the global distribution of persistent organic pollutants, *Chimia* 57, 514–521.
- Figueiredo, H., Neves, I.C., Quintelas, C., Tavares, T., Taralunga, M., Mijoin, J., Magnoux, P., 2006, Oxidation catalysts prepared from biosorbents supported on zeolites, *Applied Catalysis B: Environmental* 66, 274–280.
- Fitzner, S.M., 2002, Three Decades Of Federal Integrated Pest Management Policy, *Pesticides in Agriculture and Environmental*, Edited by Willis B. Wheeler, CRC Press 330s.
- Flemming, H.C., 1995, Sorption Sites in Biofilms, *Wat. Sci. Tech.*, 32(8), 27-33.
- Fredrickson, J., Balkwill, D., Zachara, J., Li, S., Brockman, F., Simmons, M., 1991, Physiological diversity and distributions of heterotrophic bacteria in deep cretaceous sediments of the Atlantic coastal plain, *Appl. Environ. Microbiol.* 57, 402–411.
- Frensch H, Goebel H. 1954. Patents: DBP 1 015 797, Prior. 1954, DBP 960 989, Prior. 1954 and Frensch, H., Goebel, H., Finkenbrink and W. Staudermann (1954) Patents: DBP 963 282,
- Fujishige, N.A., Kapadia, N.N., Hirsch, A.M., 2006, A feeling for the microorganism: structure on a small scale. *Biofilms on plant roots*, *Bot J. Linnean Soc.*, 150 (1): 79-88.
- Furuhata, K., Koike, A.K., 1993, Isolation of *Methylobacterium* spp. from drinking tank-water and resistance of isolates to chlorine, *Jpn. J. Publ. Health*, 40. 1047–1053.
- Furuhata, K., Koike, A.K., Matsumoto, A., 1989, Growth and survival of a chlorine resistive gram-negative rod bacterium, *Protomonas extorquens* isolated dominantly from drinking tank-water, *Bull. Jpn. Soc. Microb. Ecol.* 4, 35–47.
- Gan S., Lau, E.V., H.K., Ng, H.K., 2009, Remediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), *Journal of Hazardous Materials* 172, 532–549.
- Geavo, B., Sample, K.T., Jones, K.C., 2000, Bound pesticide residues in soils: a review, *Environmental Pollution*, Volume 108, Issue 1, 3-14.
- GFEA (German Federal Environment Agency). 2004. Draft Dossier prepared in support of a proposal of endosulfan to be considered as a candidate for inclusion in the UN-ECE LRTAP protocol on persistent organic pollutants. German Federal Environment Agency. Umweltbundesamt, Berlin.

[http://www.unece.org/env/popsxg/docs/2004/Dossier\\_Endosulfan.2004.pdf](http://www.unece.org/env/popsxg/docs/2004/Dossier_Endosulfan.2004.pdf), Erişim Tarihi:01.01.2011

- Ghadiri, H., Rose, C.W., 2001, Degradation of endosulfan in a clay soil from cotton farms of western Queensland, *Journal of Environmental Management* 62, 155–169.
- Gilliom, R., 1995, Pesticides in Ground Waters, National Water Quality Assessment, Pesticide National Synthesis Project, 244s.
- Goebel, H.G.S., Knauf, W., Rimpau, R.H., Huttenbach, H., 1982, *Residue Rev.*, 83, 1–174.
- Goebel, H., Gorbach, S., Knauf, W., Rimpau, R.H., Huttenbach, H., 1982, Properties, effects, residues and analytics of the insecticide endosulfan, *Residue Reviews*, 83, 1–122.
- Goswami, S., Singh, D.K., 2009, Biodegradation of a and b endosulfan in broth medium and soil microcosm by bacterial strain *Bordetella* sp. B9, *Biodegradation* 20, 199–207.
- Goswami, S., Vig, K., Singh, K.D., 2009, Biodegradation of  $\alpha$  and  $\beta$  endosulfan by *Aspergillus sydoni*, *Chemosphere* 75, 883–888.
- Gottschal, J.C., Harder, W., Prins, R.A., 1992, Principles of enrichment, isolation, cultivation, and preservation of bacteria. In: A. Balows, H.G., Trüper, M., Dworkin, W., Harder, K.H., Schleifer (eds) *The Prokaryotes*, 2nd edn, Springer-Verlag, New York. 149–196.
- Green, L.H., 2008, *Culturing and Preserving Microorganisms*, *CRC Practical Handbook of Microbiology*, Second edition, Ed. Goldman, E., Green L., H., 864s.
- Green, P.N., 2006, *Methylobacterium*, *The Prokaryotes*, Volume 5, 257–265.
- Green, P.N., Bousfield, I.J., 1982, A taxonomic study of some gram-negative facultatively methylotrophic bacteria, *J. Gen. Microbiol.* 128, 623–638.
- Green, P.N., Bousfield, I.J., 1983, Emendation of *Methylobacterium* Patt, Cole, and Hanson 1976; *Methylobacterium rhodinum* (Heumann 1962) comb. nov. corrig.; *Methylobacterium radiotolerans* (Itô and Iizuka 1971) comb. nov. corrig.; and *Methylobacterium mesophilicum* (Austin and Goodfellow 1979) comb. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.*
- Greve, P.A., Wit, S.L., 1971, Endosulfan in the Rhine River, *J. Water Pollut Control Fed.* 43, 2338-2348.

- Guerin, T.F., 1999, The anaerobic degradation of endosulfan by indigenous microorganisms from low-oxygen soils and sediments, *Environmental Pollution* 106 (1), 13-21.
- Guha, A., Kumari, B., Bora, T.C., Deka, P.C., Roy, M.K., 2000, Bioremediation of endosulfan by *Micrococcus* sp., *Indian Journal of Environmental Health (Indian J. Environ. Health)*, Vol.42, 9-12.
- Gündüz, T., 1998, Çevre Sorunları, Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Ankara.
- He, J., Balasubramanian, R., 2010, Semi-volatile organic compounds (SVOCs) in ambient air and rainwater in a tropical environment: concentrations and temporal and seasonal trends, *Chemosphere* 78(6), 742-51.
- Hiraishi, A., Furuhashi, K., Matsumoto, A., Koike, K.A., Fukuyama, M., Tabuchi, K., 1995, Phenotypic and genetic diversity of chlorine-resistant *Methylobacterium* strains isolated from various environments, *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 2099–2107.
- Hogg, S., 2005, *Essential Microbiology*, John Wiley. 481s.
- Höhener, P., Aelion, C.M., 2010, *Fundamentals of Environmental Isotopes and Their Use in Biodegradation*, *Environmental Isotopes in Biodegradation and Bioremediation*, CRC Press, Taylor & Francis Group, 466s.
- Hunter, W.J., Shaner, D.L., 2009, *Journal of Contaminant Hydrology*, Nitrogen limited biobarriers remove atrazine from contaminated water: Laboratory studies, Volume 103, Issues 1-2, 29-37.
- Hussain, S., Arshad, M., Saleem, M., Zahir, Z.A., 2007, Screening of soil fungi for in vitro degradation of endosulfan, *World J. Microbiol. Biotechnol.* 23., 939–945.
- Imai, R., Nagata, Y., Fukuda, M., Takagi, M., Yano, K., 1991, Molecular cloning of a *Pseudomonas paucimobilis* gene encoding a 17-kilodalton polypeptide that eliminates HCl molecules from gamma-hexachlorocyclohexane, *J. Bacteriol.* 173, 6811–6819.
- James, C., Collins, J., 2007, *Pesticide Chemistry: Crop Protection, Public Health, Environmental Safety*, Wiley, 542s.
- Jamil, K., Shaik, A.P., Mahboob, M., Krishna, D., 2004, Effect of organophosphorus and organochlorine pesticides (monochrotophos, chlorpyrifos, dimethoate, and endosulfan) on human lymphocytes in-vitro, *Drug Chem Toxicol* 27, 33–44.

- Jane, K., 2006, A move to ease pesticide laws, San Francisco Chronicle:pp.A1. <http://www.sfgate.com>, Erişim Tarihi: 02.03.2006.
- Jayashree, R., Vasudevan, N., 2006, Organochlorine pesticide residues in ground water of Thiruvallur district, India, *Environ. Monit. Assess* 128, 209–215.
- Jenni, K., Pasternak, J., Wan, M.T., Buday, C., Schroeder, G., Aggelen, G., 2005, Toxicity of a-, b-, (a+b)- endosulfan and their formulated and degradation products to *Daphnia magna*, *Hyalella azteca*, *Oncorhynchus mykiss*, *Oncorhynchus kisutch*, and biological implications in streams. *Environ Toxicol Chem* 24, 1146–1154.
- Jeyasingh, J., Somasundaram, V., Philip, L., Bhallamudi, S.M., 2010, Pilot Scale Studies on Remediation of Chromium Contaminated Aquifer Using Biobarrier and Reactive Zone Technologies, *Chemical Engineering Journal*.
- Jia, H., Li, Y.F., Wang, D., Cai, D., Yang, M., Ma, J., 2009, Endosulfan in China 1: gridded usage inventories, *Environ Sci Pollut Res* 16, 295–301.
- Ka, J., Holben, W., Tiedje, J., 1994, Genetic and phenotypic diversity of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid (2, 4-D)-degrading bacteria isolated from 2, 4-D-treated field soils, *Appl. Environ. Microbiol.* 60, 1106–1115.
- Kalyani, S., Sharma, J., Singh, S., Dureja, P., 2009, Enrichment and isolation of endosulfan-degrading microorganism from tropical acid soil, *Journal of Environmental Science and Health Part B-44*, 663-672.
- Kalyoncu, L., Agca, İ., Aktumsek, A., 2009, Some organochlorine pesticide residues in fish species in Konya, Turkey, *Chemosphere*, Volume 74, Issue 7, 885-889.
- Kantarıcı, M., 2007, Global BKÜ pazarı ve Ar-ge, Tarım İlaçları Kongre ve Sergisi, Ankara. TMMOB Kimya ve Ziraat Mühendisleri Odaları, Bildiri Kitabı, 13-23.
- Kao, C.M., Chen, S.C., Liu, J.K., 2001, Development of a biobarrier for the remediation of PCE-contaminated aquifer, *Chemosphere*, Volume 43, Issue 8, 1071-1078.
- Kao, C.M., Chen, Y.L., Chen, S.C., Yeh, T.Y, Wu, W.S., 2003 (a), Enhanced PCE dechlorination by biobarrier systems under different redox conditions, *Water Research*, Volume 37, Issue 20, 4885-4894.
- Kao, C.M., Chen, Y.L., Chen, Wang, J.Y., Chen, Y.L., Lee, S.Z., 2003 (b), Remediation of PCE-contaminated aquifer by an in situ two-layer

biobarrier: laboratory batch and column studies, *Water Research*, Volume 37, Issue 1, 27-38.

- Karlson, U., Rojo, F., Elsas, V.J., Moore, E., 1996, Genetic and serological evidence for the recognition of four pentachlorophenol-degrading bacterial strains as a species of the genus *Sphingomonas*, *Appl. Syst. Microbiol.* 18, 539–548.
- Kataoka, R., Takagi, K., Sakakibara, F., 2010, A new endosulfan-degrading fungus, *Mortierella* species, isolated from a soil contaminated with organochlorine pesticides, *J. Pestic. Sci.*, 35(3), 326–332.
- Katayama, A., Matsumura, F., 1993, Degradation of organochlorine pesticides, particularly endosulfan, by *Trichoderma harzianum*, *Environmental Toxicology and Chemistry*, Volume 12, Issue 6, 1059-1065.
- Kathpal, T.S., Singh, A., Dhankhar, J.S., 1997, Fate of endosulfan in cotton soil under sub-tropical conditions in Northern India, *Pestic Sci* 50:21-27.
- Kato, Y., Asahara, M., Arai, D., Goto, K., Yokota, A., 2005, Reclassification of *Methylobacterium chloromethanicum* and *Methylobacterium dichloromethanicum* as later subjective synonyms of *Methylobacterium extorquens* and of *Methylobacterium lusitanum* as a later subjective synonym of *Methylobacterium rhodesianum*, *J. Gen. Appl. Microbiol.* 51(5), 287-299.
- Kaur, I., Mathur, R.P., Tandon, S.N., 1998, Persistence of endosulfan (technical) in water and soil, *Environ. Technol.* 19, 115–119.
- Khan, A., Wang, R., Cao, W., Franklin, W., Cerniglia, C., 1996, Reclassification of a polycyclic aromatic hydrocarbon-metabolizing bacterium, *Beijerinckia* sp. strain B1, as *Sphingomonas yanoikuyae* by fatty acid analysis, protein pattern analysis, DNADNA hybridization, and 16S ribosomal DNA sequencing, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 46, 466–469.
- Kim, G., Lee, S., Kim, Y., 2006, Subsurface biobarrier formation by microorganism injection for contaminant plume control, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, Volume 101, Issue 2, 142-148.
- Knoevenagel, K., Himmelreich, R., 1976, Degradation of compounds containing carbon atoms by photooxidation in the presence of water, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, Vol 4, 324-333.

- Kröpfel, K., Zaray, G., Vládar, P., Mages, M., Ács, E., 2003, Study of biofilm formation by total-reflection X-ray fluorescence spectrometry, *Microchemical Journal*, Volume 75, Issue 2, 133-137.
- Kullman, S., Matsumura, F., 1996, Metabolic Pathways Utilized by *Phanerochaete chrysosporium* for Degradation of the Cyclodiene Pesticide Endosulfan, *Applied and Environmental Microbiology*, 593–600.
- Kumar, K., Devi, S.S., Krishnamurthi, K., Kanade, G.S., Chakrabarti, T., 2007, Enrichment and isolation of endosulfan Degrading and detoxifying bacteria, *Chemosphere* 68, 317–322.
- Kumar, M., Lakshmi, C.V., Khanna, S., 2008(a), Microbial biodiversity and in situ bioremediation of endosulfan contaminated soil, *Indian J. Microbiol.* 48:128–133.
- Kumar, M., Lakshmi, C.V., Khanna, S., 2008 (b), Biodegradation and bioremediation of endosulfan contaminated soil, *Bioresource Technology* 99, 3116–3122.
- Kumar, M., Philip, L., 2006 (a), Bioremediation of endosulfan contaminated soil and water—Optimization of operating conditions in laboratory scale reactors, *Journal of Hazardous Materials B136* , 354–364.
- Kumar, M., Philip, L., 2006 (b), Endosulfan Mineralization by Bacterial Isolates and Possible Degradation Pathway Identification, *Bioremediation Journal*, 10(4), 179–190.
- Kumar, M., Philip, L., 2006 (c), Enrichment and isolation of a mixed bacterial culture for complete mineralization of endosulfan, *J. Environ. Sci. Health B.*;41(1), 81-96.
- Kutchko, B.G., Kim, A.G., 2006, Fly ash characterization by SEM–EDS, *Fuel*, Volume 85, Issues 17-18, 2537-2544.
- Kwon, G.S., Sohn, H.Y., Shin, K.S., Kim, E., Seo, B., 2005, Biodegradation of the organochlorine insecticide, endosulfan, and the toxic metabolite, endosulfan sulfate, by *Klebsiella oxytoca* KE-8, *Applied Microbiology and Biotechnology* 67, 845–850.
- Lameiras, S., Quintelas, C., Tavares, T., 2008, Biosorption of Cr (VI) using a bacterial biofilm supported on granular activated carbon and on zeolite, *Bioresource Technology*, Volume 99, Issue 4, 801-806.
- Lawrence, J.B., 2003, Organochlorine Pesticides, *Handbook of Ecotoxicology Second Edition*, 1253s.

- Lee, J.B., Sohn, H.Y., Shin, K.S., Jo, M.S., Kim, J.E., Lee, S.W., Shin, J.W., Kum, E.J., Kwon, G.S., 2006, Isolation of a Soil Bacterium Capable of Biodegradation and Detoxification of Endosulfan and Endosulfan Sulfate, *J. Agric. Food Chem.*, 54, 8824–8828.
- Lee, S.E., Kim J.S., Kennedy, I.R., Park, J.W., Kwon, G.S., Koh, S.C., Kim, J.E., 2003, Biotransformation of an organochlorine insecticide, endosulfan by *Anabaena* species, *Journal Of Agricultural And Food Chemistry* 51 (5), 1336-1340.
- Leone, S., Molinaro, A., Alfieri, F., Cafaro, V., Lanzetta, R., Donato, A., Parrilli, M., 2006, The biofilm matrix of *Pseudomonas* sp. OX1 grown on phenol is mainly constituted by alginate oligosaccharides. *Carbohydr Res.* 341, 2456 – 2461.
- Leung, K.T., Cassidy, M.B., Shaw, K.W., Lee, H., Trevors, J.T., Lohmeier-Vogel, E.M., 1997, Isolation and characterization of pentachlorophenol degrading *Pseudomonas* spp. UG25 and UG30, *World J. Microbiol. Biotech.* 13, 305–313.
- Li, W., Dai, Y., Xue, B., Li, Y., Peng, X., Zhang, J., Yan, Y., 2009, Biodegradation and detoxification of endosulfan in aqueous medium and soil by *Achromobacter xylosoxidans* strain CS5, *Journal of Hazardous Materials* 167, 209-216.
- Li, Y.F., Li, D.C., 2004, Global emission inventories for selected organochlorine pesticides, Internal report, meteorological service of *Canada*, Environment Canada, Toronto, Canada.
- Li, Y.F., Macdonald, R.W., 2005, Sources and pathways of selected organochlorine pesticides to the Arctic and the effect of pathway divergence on HCH trends in biota: a review, *Sci. Total Environ* 342, 87–106.
- Lidstrom, M.E., Ludmila, C., 2002, Plants in the Pink: Cytokinin Production by *Methylobacterium*, *Journal Of Bacteriology*, 1818 Vol. 184, No. 7.
- Louie, P.K., Sin, D.W., 2003, A preliminary investigation of persistent organic pollutants in ambient air in Hong Kong, *Chemosphere* 52, 1397–1403.
- Lu, Y., Morimoto, K., Takeshita, T., Takeuchi, T., Saito, T., 2000, Genotoxic effects of alpha-endosulfan and beta-endosulfan on human HepG2 cells, *Environ Health Perspect.*, 108(6), 559-561.
- Mackay, N., Arnold, D., 2005, Evaluation and interpretation of environmental data on endosulfan in Arctic regions, Report for Bayer CropScience,

Cambridge Environmental Assessments (CEA), Report number 107, Cambridge, UK, 1977s.

Madsen, E.L., 2008, Environmental Microbiology From Genomes to Biogeochemistry, Blackwell Publishing, 490s.

Metcalf ve Eddy, 2003, Wastewater Engineering Treatment and Reuse, Tata McGraw-Hill, New Delhi., 1408s.

Miles, J.R.W., Moy, P., 1979, Degradation of endosulfan and its metabolites by a mixed culture of soil microorganisms, Bull. Environ. Contam. Toxicol. 23, 13-19.

Mohn, W.W., 1995, Bacteria obtained from a sequencing batch reactor that are capable of growth on dehydroabietic acid, Appl. Environ. Microbiol. 61, 2145–2150.

Morello, J.A., Granato, P.A., Mizer, H.E., 2002, Laboratory Manual and Workbook in Microbiology, Applications to Patient Care, 7th Edition, 285s.

Mukherjee, I., Gopal, M., 1994, Degradation of beta-endosulfan by *Aspergillus niger*, Toxicol. Environ. Chem. 46:217-221.

Mukherjee, I., Mittal, A., 2005, Bioremediation of endosulfan using *Aspergillus* and *Cladosporium oxysporum*, Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 75, 1034–1040.

Myers, D., 2000, Cotton Tales. New Internationalist, 323.

Nohynek, L., Nurmiäho-Lassila, E., Suhonen, E., Busse, H., Mohammadi, M., Hantula, J., 1996, Description of chlorophenol-degrading *Pseudomonas* sp. strains KF1T, KF3, and NKF1 as a new species of the genus *Sphingomonas*, *Sphingomonas subarctica* sp. nov. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 46, 1042–1055.

NRCC, 1975, Endosulfan: Its effects on environmental quality. Ottawa, Ontario: National Research Council Canada, Environmental Secretariat. Publication no. NRCC 14098.

Olsen, L., Tschirley, F., 1990, Managing Pesticides to Avoid Surface and Groundwater Contamination. Extension Service, Michigan State University Department of Agriculture, Project Number 89-EWQI-9142 Michigan.

Otludil, B., Cengiz, E., Yıldırım, M.Z., Unver, O., Unlu, E., 2004, The effects of endosulfan on the great ramshorn snail *Planorbis corneus* (Gastropoda, Pulmonata): a histopathological study, Chemosphere 56(7), 707-716.

- Öztürk, S., 2007, Tarım İlaçları, Genişletilmiş 2. Baskı. Ak Basımevi, İstanbul.
- PAN, 2010, Endosulfan in Brief, [www.ipen.org](http://www.ipen.org)., *Erişim Tarihi:10.01.2011*
- PANAP, 1996., Endosulfan datasheet. Pesticide Action Network – Asia and the Pacific, Penang, Malaysia.
- PAN-UK, 1991, 31 die from endosulfan poisoning in Sudan. *Pesticides News* 13: 7.
- PANUPS, 1994, Pesticide Action Network North America Updates Service, International Citizen's Campaign Targets Hoechst Pesticides.
- PANUPS, 1996, Endosulfan responsible for Alabama fish kill. Pesticide Action Network North America Updates Service, 23 February.
- Park, B.S., Lee, S.E., 2004, Biotransformation of  $\beta$ -endosulfan by *Anabaena* sp. PCC 7120, *Agric. Chem. Biotechnol.* 47(1), 38-41.
- Paul, D., Pandey, G., Pandey, J., Jain, R.K., 2005, Accessing microbial diversity for bioremediation and environmental restoration, *Trends Microbiol.*, Volume 23, Issue 3, 135-142.
- Pepper, I.L., Gerba, C.P., 2004, *Environmental Microbiology; A Laboratory Manual*, Second Edition, Elsevier Academic Press, 226s.
- Pepper, I.L., Gerba, C.P., Brusseau, M.L., 2006, *Environmental and Pollution Science*, Second Edition, Academic Press, San Diego, 553s.
- Percival, S.L., Walker, J.T., Hunter, P.R., 2000, *Microbiological Aspects of Biofilms and Drinking Water*, CRC Press, 215s.
- Peterson, S.M., Batley, G.E., 1993, The Fate Of Endosulfan in Aquatic Ecosystems, *Environmental Pollution* 82; 143-152.
- Prescott, H., 2002, *Laboratory Exercises in Microbiology*, Fifth Edition, The McGraw-Hill Companies, 449s.
- Quintelas, C., Rocha, Z., Silva, B., Fonseca, B., Figueiredo, H., Tavares, T., 2009, Biosorptive performance of an *Escherichia coli* biofilm supported on zeolite NaY for the removal of Cr(VI), Cd(II), Fe(III) and Ni(II), *Chemical Engineering Journal*, Volume 152, Issue 1, 110-115.
- Raloff, J., 1998, Common pesticide clobbers amphibians. *Science News* 154:150.
- Rao, D.M.R., Murty, A.S., 1980, Persistence of endosulfan in soils, *J. Agric Food Chem* 28, 1099–1101.

- Rao, P.S.C., Mansell, R.S., Baldwin, L.B., Laurent, M.F., 1983. Pesticides and their Behavior in Soil and Water. Soil Science Fact Sheet. Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida.
- Richter, O., Diekkriiger, B., Nortersheuser, P., 1996, Environmental Fate Modelling of Pesticides, VCH Weinheim, Germany, 288s.
- Saitou, N., Nei, M., 1987, The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees, *Molecular Biology and Evolution* 4, 406-425.
- Saiyed, H., Dewan, A., Bhatnagar, V., Shenoy, U., Shenoy, R., Rajmohan, H., Patel, K., Kashyap, R., Kulkarni, P., Rajan, B., Lakkad, B., 2003, Effect of endosulfan on male reproductive development, *Environmental Health Perspectives*. Dec;111(16), 1958-62.
- Sakai, M., 2003, Investigation of Pesticide in Rainwater at Isogo Ward of Yokohama, *Journal of Health Science*, 49(3), 221-225.
- Sanaha, M., 2003, End of the road for endosulfan: A call for action against a dangerous pesticide. Environmental Justice Foundation. London, UK 4s. <http://www.ejfoundation.org/reports.html>, Erişim Tarihi: 01.01.2010
- Santos, T.M.C., Monteiro, R.T.R., 1994, Influence of aldicarb -and endosulfan on the number of microorganisms and urease activity in the soil, *Sci Agric (Piracicaba, Braz.)* 51, 123–130.
- Saponaro, S., Negri, M., Sezenna, E., Bonomo, L., Sorlini, C., 2009, Groundwater remediation by an in situ biobarrier: A bench scale feasibility test for methyl tert-butyl ether and other gasoline compounds, *Journal of Hazardous Materials*, Volume 167, Issues 1-3, 545-552.
- Sayen, S., Mallet, J., Guillon, E., 2009, Aging effect on the copper sorption on a vineyard soil: Column studies and SEM–EDS analysis, *Journal of Colloid and Interface Science*, Volume 331, Issue 1, 47-54.
- SCPOP, 2010, Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants, <http://chm.pops.int.>, Erişim Tarihi: 13.10.2010.
- Seo, Y., Lee, W.H., Sorial, G., Bishop, P.L., 2009, The application of a mulch biofilm barrier for surfactant enhanced polycyclic aromatic hydrocarbon bioremediation, *Environmental Pollution*, Volume 157, Issue 1, 95-101.
- Sethunathan, N., Megharaj, M., Chen, Z.L., Williams, B.D., Lewis, G., Naidu, R., 2004, Algal degradation of a known endocrine disrupting

insecticide,  $\alpha$ -endosulfan, and its metabolite, endosulfan sulfate, in liquid medium and soil, *J Agric Food Chem* 52: 3030–3035.

Shetty, P.K., Mitra, J., Murthy, N.B.K., Namitha, K.K., Savitha, K.N., Raghu, K., 2000, Biodegradation of cyclodiene insecticide Endosulfan by *Mucor thermohyalospora* MTCC 1384, *Current Science* 79, Issue 9, 1381-1383.

Shivaramaiah, H.M., Kennedy, I.R., 2006, Biodegradation of endosulfan by a soil bacterium, *Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, Volume 41, Issue 6., 895-905.

Shivaramaiah, H.M., Sanchez-Bayo, F., Al-Rifai, J., Kennedy, I. R., 2005., The Fate of Endosulfan in Water, *Journal of Environmental Science and Health Part B*, 40:711–720.

Siddique, T., Okeke, B.C., Arshad, M., Frankenberger, W.T.J., 2003, Biodegradation kinetics of endosulfan by *Fusarium ventricosum* and a *Pandora* species, *J. Agric. Food Chem.* 51(27), 8015-8019.

Singh, N. C., Dasgupta, T. P., Roberts, E. V., Mansingh, A., 1991, Dynamics of pesticides in tropical conditions. 1. Kinetic studies of volatilization, hydrolysis, and photolysis of dieldrin and  $\alpha$ - and  $\beta$ -endosulfan, *J. Agric. Food Chem.*, 39, 575–579.

Singh, N.S., Singh, D.K., 2010, Biodegradation of endosulfan and endosulfan sulfate by *Achromobacter xylosoxidans* strain C8B in broth medium, Biodegradation.

Singh, R., Paul, D., Jain, R.K., 2006, Biofilms: implications in bioremediation, *Trends Microbiol.*, Sep;14(9), 389-397.

Sofuoglu, A., Cetin, E., Bozacioglu, S.S., Sener, G.D., Odabasi, M., 2004, Short-term variation in ambient concentrations and gas/particle partitioning of organochlorine pesticides in Izmir, Turkey, *Atmos. Environ.* 38, 4483–4493.

SSC., 2009, Endosulfan and other chemicals being assessed for listing under the Stockholm Convention Secretariat of the Stockholm Convention, <http://chm.pops.int.>, Erişim Tarihi. 20.10.2009

Stefan, R.I., Atlas, R.M., 1991, Polymerase Chain Reaction, Application in *Environmental Microbiology*.45,137-161.

Story, S.P., Parker, S.H., Kline, J.D., Tzeng, T.R., Mueller, J.G., Kline, E.L., 2000, Identification of four structural genes and two putative promoters necessary for utilization of naphthalene, phenanthrene,

and fluoranthene by *Sphingomonas paucimobilis* var EPA505., Gene 260,155–169.

Strachan, W.M.J., Huneault, H., Schertzer, W.M., Elder, F.C, 1980, Organochlorines in precipitation in the Great Lakes region. In: Afghan, B.K., McKay, D., eds. Hydrocarbons and halogenated hydrocarbons in the aquatic environment, New York, London: Plenum Press, 387-396.

Surendranath, C., 2001, Double trouble. *Down To Earth*.

Sutherland, I.W., 2001, Biofilm exopolysaccharites: A strong and sticky framework, *Microbiology*. 147, 3-9.

Sutherland, T.D., Horne, I., Lacey, M. J., Harcourt, R. L., Russell, R. J., Oakeshott, J.G., 2000, Enrichment of an Endosulfan-Degrading Mixed Bacterial Culture, *Appl. Environ Microbiol.*, 66(7): 2822–2828.

Sutherland, T.D., Weir, K.M., Lacey, M.J., Horne, I., Russell, R.J., Oakeshott, J.G., 2002, Enrichment of a microbial culture capable of degrading endosulphate, the toxic metabolite of endosulfan, *J. Appl Microbiol* 92:541–548.

Szynkowska, M.I., Pawlaczyk, A., Rogowski, J., 2008, ToF-SIMS and SEM-EDS analysis of the surface of chosen bioindicators, *Applied Surface Science*, Volume 255, Issue 4, 1165-1169.

Taira, K., Hayase, N., Arimura, N., Yamashita, S., Miyazaki, T., Furukawa, K., 1988, Cloning and nucleotide sequence of the 2, 3-dihydroxybiphenyl dioxygenase gene from the PCB-degrading strain of *Pseudomonas paucimobilis* Q1, *Biochemistry*. 27, 3990–3996.

Tamura, K., Dudley, J., Nei, M., Kumar, S., 2007, MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0, *Molecular Biology and Evolution* 24, 1596-1599.

Tamura, K., Nei, M., Kumar, S., 2004, Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method, *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 101, 11030-11035.

Ton, P., Tovignan ,S., Vodouhe, D.S., 2000, Endosulfan deaths and poisonings in. Benin, *Pesticide News* 47, 12-14.

Tripathi, S., Mudholkar, A., Vora, K.H., Rao, B.R., Gaur, A.S., 2010, Geochemical and mineralogical analysis of stone anchors from west coast of India: provenance study using thin sections, XRF and SEM-EDS, *Journal of Archaeological Science*, Volume 37, Issue 8, 1999-2009.

- Turabi, M.S., 2007, Bitki Koruma Ürünlerinin Ruhsatlandırılması, Tarım İlaçları Kongre ve Sergisi Bildirileri, 25-26 Ekim 2007, Ankara, 50-61.
- Turgut, C., Atatanir, L., Cutright, T.J., 2010b, Evaluation of pesticide contamination in Dilek National Park, Turkey Environ. Monit. Assess. 170, 671–679.
- Turgut, C., Erdogan, O., Ates, D., Gokbulut, C., Cutright, T.J., 2010a, Persistence and behavior of pesticides in cotton production in Turkish soils, Environ. Monit. Assess., 162, 201–208.
- UNEP, 2007, Secretariat for the Rotterdam Convention on the Prior Informed Consent Procedure for Certain Hazardous Chemicals and Pesticides in International Trade, Draft Decision Guidance Document, United Nations Environment Programme, <http://www.pic.int/incs/crc3/m13/English/K0654774%20CRC-3-13.pdf>. 2008-10-06. Erişim Tarihi. 16.10.2007
- Vallero, D.A., 2010, Environmental Biotechnology: A Biosystems Approach, Academic Press, 742s.
- Verma, A., Ali, D., Farooq, M., Pant, A.B., Ray, R.S., Hans, R.K., 2011, Expression and inducibility of endosulfan metabolizing gene in *Rhodococcus* strain isolated from earthworm gut microflora for its application in bioremediation, Bioresource Technology. 2979-2984.
- Vig, K., Singh, D.K., Sharma, P.K., 2006, Endosulfan and quinalphos residues and toxicity to soil microarthropods after repeated applications in a field investigation, J. Environ. Sci. Health B 41, 681–692.
- Wackett, L.P., 1996, Biodegradation of chlorinated aliphatic compounds, Bioremediation: Principles and Applications, Crawford, R.L. and Crawford, L.D. (eds), Cambridge University Press, 300-311.
- Wallström, S., Karlsson, S., 2004, Biofilms on silicone rubber insulators; microbial composition and diagnostics of removal by use of ESEM/EDS: Composition of biofilms infecting silicone rubber insulators, Polymer Degradation and Stability, Volume 85, Issue 2, 841-846.
- Walse, S.S., Scott, G.I., Ferry, J.L., 2003, Stereoselective degradation of aqueous endosulfan in modular estuarine mesocosms: formation of endosulfan  $\gamma$ -hydroxycarboxylate, J. Environ. Monit. 5, 373-379.
- Waxman, M.F., 1998, Pesticide and Environmental Protection Agrochemical and Pesticides Safety Handbook, 619s.

- Weir, K.M., Sutherland, T.D., Horne, I., Russell, R.J. Oakeshott, J.G., 2006, A single monooxygenase, ese, is involved in the metabolism of the organochlorides endosulfan and endosulfate in an *Arthrobacter* sp., *Appl. Environ. Microbiol.* 72, 3524–3530.
- White, D., Sutton, S., Ringelberg, D., 1996, The genus *Sphingomonas*: physiology and ecology, *Cur. Opin. Biotechnol.* 7, 301–306.
- WHO. 1988, A companion volume to Environmental Health Criteria 40: Endosulfan. Published by the WHO for the International Programme On Chemical Safety, Health and Safety Guide No. 17. Geneva, Switzerland.  
<http://www.inchem.org/documents/hsg/hsg/hsg017.htm>, Erişim Tarihi:01.01.2011
- Wittich, R.M., Wilkes, H., Sinnwell, V., Francke, W., Fortnagel, P., 1992, Metabolism of dibenzo-*p*-dioxin by *Sphingomonas* sp. strain RW1, *Appl. Environ. Microbiol* 58, 1005-1010.
- Yavanos, A.A., 2009, High-Pressure Habitats, Schaechter, M. editor, *Encyclopedia of Microbiology*, third edition. Elsevier, Oxford, UK. 228-239.
- Yim, M.S., Yau, Y.C., Matlow, A., So, J.S., Zou, J., Flemming, C.A., Schraft, H., Leung, K.T., 2010, A novel selective growth medium-PCR assay to isolate and detect *Sphingomonas* in environmental samples, *J Microbiol Methods.* Jul;82(1), 19-27.
- Zertal, A., Jacquet, M., Lavedrine, B., Sehili, T., 2005, Photodegradation of chlorinated pesticides dispersed on sand, *Chemosphere* 58, 1431–1437.
- Zheng, X., Chen, D., Liu, X., Zhou, X., Liu, Y., Yang, W., Jiang, G., 2010, Spatial and seasonal variations of organochlorine compounds in air on an urban–rural transect across Tianjin, China, *Chemosphere* 78, 92–98.

## EKLER

### Ek.1. Endosulfan Analizi İçin Kullanılan Kalibrasyon Tablosu

Deneyisel çalışmalarda, endosulfanın alfa ve beta izomeri için kullanılan kalibrasyon tablosu Çizelge Ek.1.'de verilmektedir.

Çizelge Ek. 1. Endosulfan alfa ve beta izomeri için kullanılan kalibrasyon tablosu

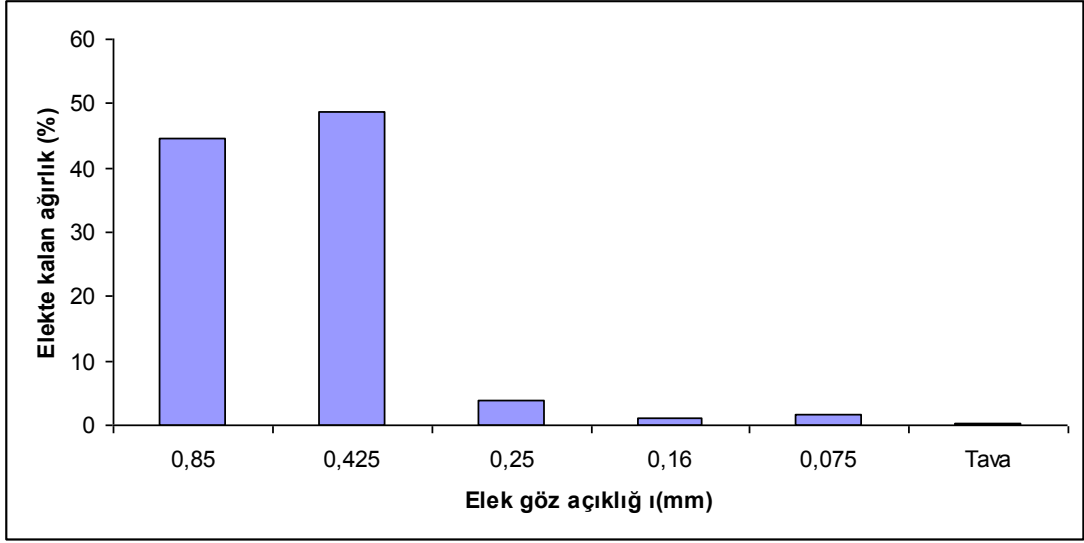
#	RT	Signal	Compound	Lvl	krogram/ul]	Area	Rsp.Factor	Ref	ISTD	#
1	9.444	ECD1 A	alfa	5	10.000	9207.100	1.0861e-3	No	No	
				4	25.000	22632.000	1.1046e-3			
				3	50.000	38883.000	1.2859e-3			
				2	75.000	58350.000	1.2853e-3			
				1	100.000	77677.000	1.2874e-3			
2	9.981	ECD1 A	beta	5	10.000	2533.500	3.9472e-3	No	No	
				4	25.000	6221.800	4.0181e-3			
				3	50.000	11470.000	4.3590e-3			
				2	75.000	17073.000	4.3930e-3			
				1	100.000	23784.000	4.2045e-3			

## Ek 2. Klinoptilolit'in Elek Analizi

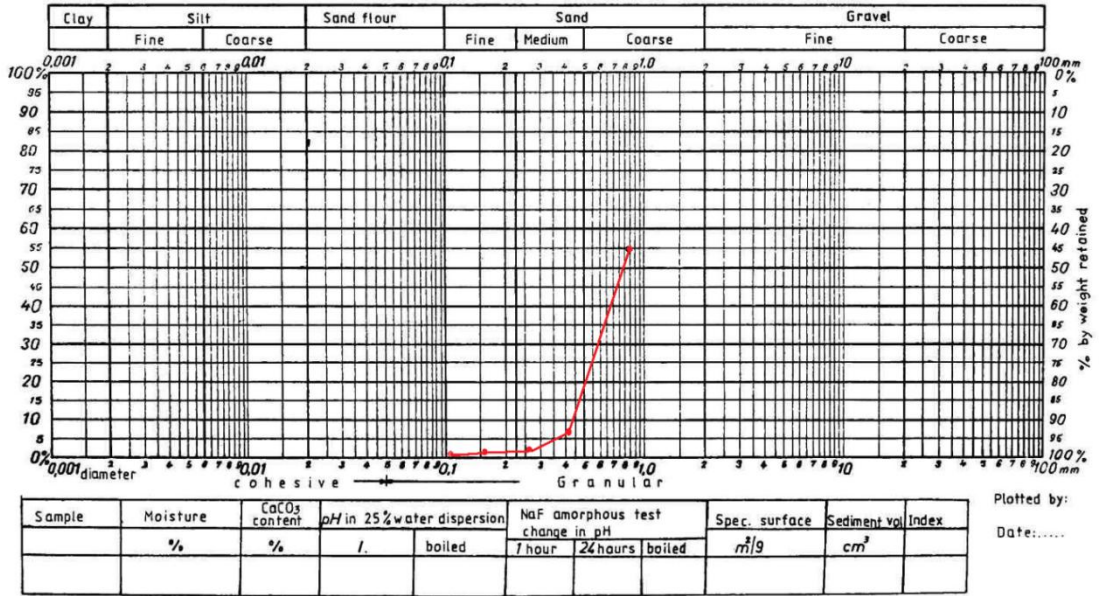
Adsorbent olarak kullanılan Manisa-Gördes yöresi klinoptiloliti eleklerde elendi. Deney toplam 500 gram zeolit üzerinden yapılmıştır. Klinoptilolit'in elek analizi sonuçları, Çizelge Ek.2'de, klinoptilolit'in dane çapı, Şekil Ek.1'de, klinoptilolit'in elek analiz sonuçlarının dane boyu dağılım eğrisi Şekil Ek 2.'de verilmektedir.

Çizelge Ek. 2. Klinoptilolit'in elek analizi sonuçları.

Elek no	Elek göz açıklığı(mm)	Elekte kalan ağırlık(yığışımli) (gram)	Elekte kalan ağırlık (%)	Toplam geçen ağırlık(gr)	Toplam geçen yüzde(%)
#20	0,85	222,9	44,58	277,1	55,42
#40	0,425	243,07	48,614	34,03	6,806
#60	0,25	19,6	3,92	14,43	2,886
#140	0,16	5,16	1,032	9,27	1,854
#200	0,075	8,15	1,63	1,12	0,224
Tava		1,12	0,224	0	
TOPLAM		500	100		



Şekil Ek. 1. Klinoptilolit dane çapı dağılım grafiği.



Şekil Ek. 2.. Klinoptilolit elek analizi sonucu tane boyu dağılım eğrisi.

### **Ek 3. Bakteri Tanımlaması PCR Testi Sonuçları**

#### **1)“Pembe” örnek dizi| 1392bp**

TGCAAGTCGAACGGGCTTCTTCGGAAGTCAGTGGCAGACGGGTGAGTAACACGTG  
GGAACGTGCCCTTCGGTTCGGAATAACTCAGGGAACTTGAGCTAATACCGGATAC  
GCCCTTTTGGGGAAAGGTTGACTGCCGAAGGATCGGCCCGCGTCTGATTAGCTTG  
TTGGTGGGGTAACGGCCTACCAAGGCGACGATCAGTAGCTGGTCTGAGAGGATGA  
TCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGG  
GGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGAGTGATGAA  
GGCCTTAGGGTTGTAAAGCTCTTTGTCCGGGACGATAATGACGGTACCGGAAGAA  
TAAGCCCCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAAGGGGGCTAGCGT  
TGCTCGGAATCACTGGGCGTAAAGGGCGCGTAGGCCGCGGATTAAGTCGGGGGT  
GAAAGCCTGTGGCTCAACCACAGAATTGCCTTCGATACTGGTTGGCTTGAGACCGG  
AAGAGGACAGCGGAACTGCGAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTCGCAAGAAC  
ACCAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCCGGTTCTGACGCTGAGGCGCGAAAGCG  
TGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAATGCC  
AGCCGTTGGCCTGCTTGCAGGTCAGTGGCGCCGCTAACGCATTTAAGCATTCCGCT  
TGGGGAGTACGGTCGCAAGATTA AAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAA  
GCGGTGGAGCATGTGGTTTCATTGCAAGCCACGCGCAGAACCTTACCATCCCTTGA  
CATGGCATGTTACCCCGAGAGATCGGGGATCCTCTTCGGAGGCGTGACACAGGT  
GCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACG  
AGCGCAACCCACGTCCTTAGTTGCCATCATTGAGTTGGGCACTCTAGGGAGACTGC  
CGGTGATAAGCCGCGAGGAAGGTGTGGATGACGTCAAGTCCTCATGGCCCTTACG  
GGATGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGGTGACAGAGGGACGCGAAACCGCGA  
GGTTGAGCAAATCCCCAAAAGCCGTCTCAGTTCGGATTGCACTCTGCAACTCGGGT  
GCATGAAGGCGGAATCGCTAGTAATCGTGGATCAGCACGCCACGGTGAATACGTT  
CCCGGGCCTTGTACACACCCGCCGTCACACCATGGGAGTTGGTCTTACCCGACGG  
CGCTGCGCCAACCGCAAGGAGGCAGGCGACCACGGTAGGGTCAGCGACTGGGGT  
GAAAGTCGTAACA

#### **2) “Sarı” örnek dizi**

TGCAAGTCGAACGAGATCTTCGGATCTAGTGGCGCACGGGTGCGTAACCGGTGGGAAT  
CTGCCCTTGGGTTTCGGAATAACTTCTGGAAACGGAAGCTAATACCGGATGATGACGTAA  
GTCCAAAGATTTATCGCCCAAGGATGAGCCCGCGTAGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTA  
AAGGCTCACCAAGGCGACGATCCTTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGG  
ACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATATTGGACAATGG

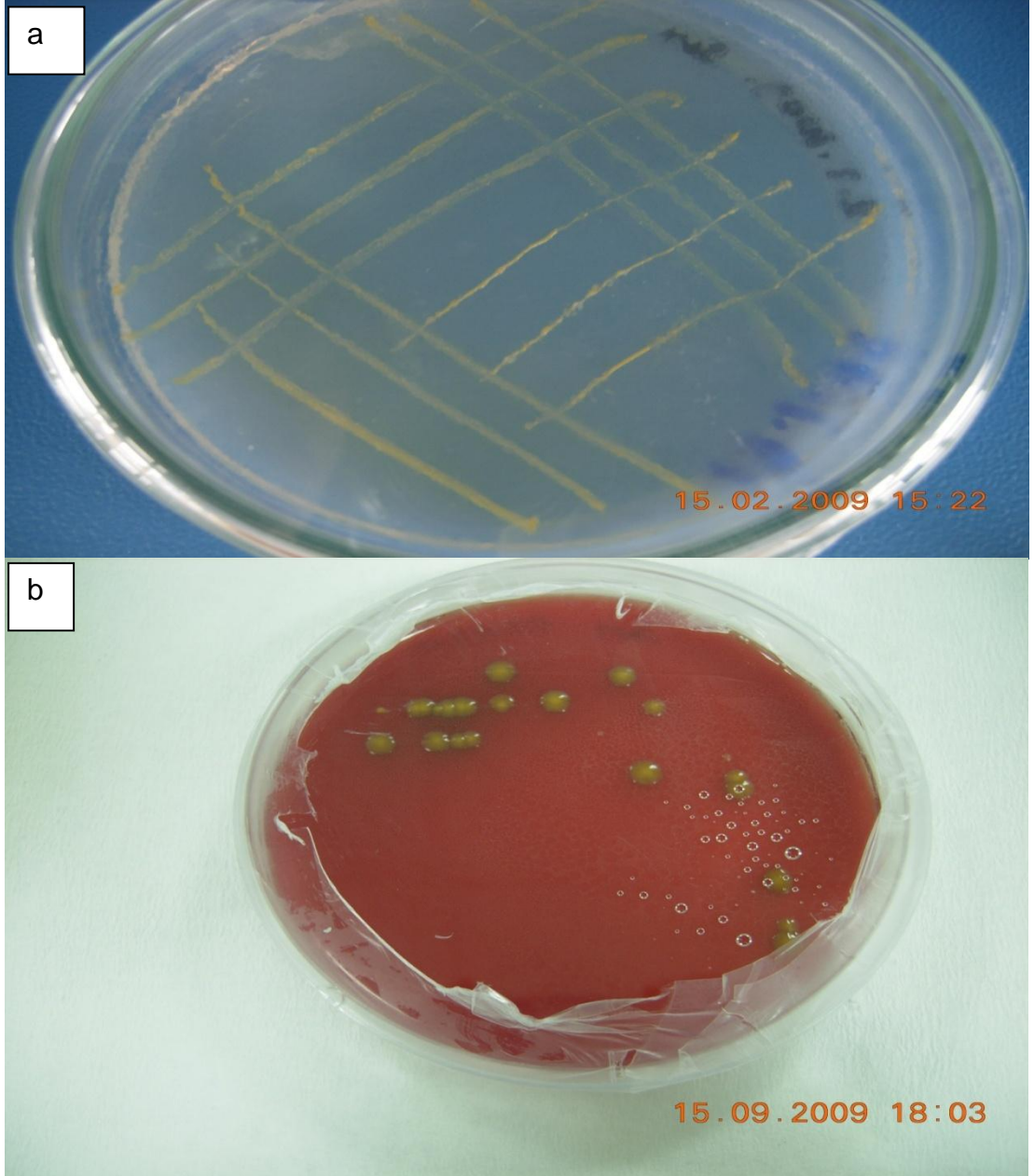
GCGAAAGCCTGATCCAGCAATGCCGCGTGAGTGATGAAGGCCTTAGGGTTGTAAAGCT  
CTTTTACCCGGGATGATAATGACAGTACCGGGAGAATAAGCTCCGGCTAACTCCGTGC  
CAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGAGCTAGCGTTGTTTCGGAATTAAGTGGGCGTAAAGC  
GCACGTAGGCGGCTATTCAAGTCAGAGGTGAAAGCCCCGGGGCTCAACCCCGGAACTG  
CCTTTGAAACTAGATAGCTTGAATCCAGGAGAGGTGAGTGGAATCCGAGTGTAGAGGT  
GAAATTCGTAGATATTCGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTCACTGGACTGGTAT  
TGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCAC  
GCCGTAAACGATGATAACTAGCTGTCAGGGCACATGGTGTGTTTGGTGGCGCAGCTAAC  
GCATTAAGTTATCCGCCTGGGGAGTACGGTTCGCAAGATTAAGGAAATTGACG  
GGGGCCTGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGAAGCAACGCGCAGAACCTTA  
CCAACGTTTGACATCCCTATCGCGGATCGTGGAGACACTTTCCTTCAGTTCGGCTGGAT  
AGGTGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTC  
CCGCAACGAGCGCAACCCTCGCCTTAGTTGCCAGCATTTAGTTGGGTAAGTCTAAAGGA  
ACCGCCGGTGATAAGCCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCTCATGGCCCTTA  
CGCGTTGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGACTACAGTGGGCAGCCACCTCGCGAG  
AGGGAGCTAATCTCCAAAAGTCGTCTCAGTTCGGATCGTTCTCTGCAACTCGAGAGCGT  
GAAGGCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCAGGC  
CTTGACACACCCGCCGTCACACCATGGGAGTTGGATTCACTCGAAGGCGTTGAGCTA  
ACCGTAAGGAGGCAGGCGACCACAGTGGGTTTAGCGACTGGGGTGAAGTCGTAACAA  
GGT

### 3) “Beyaz” örnek dizi

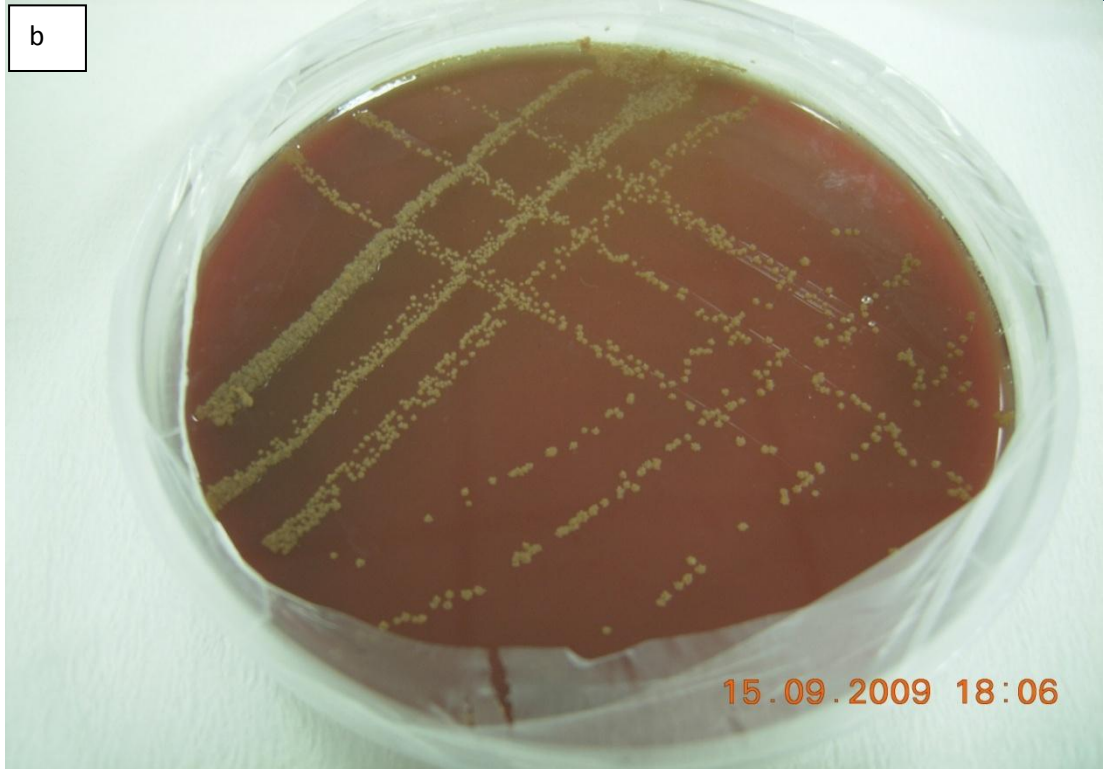
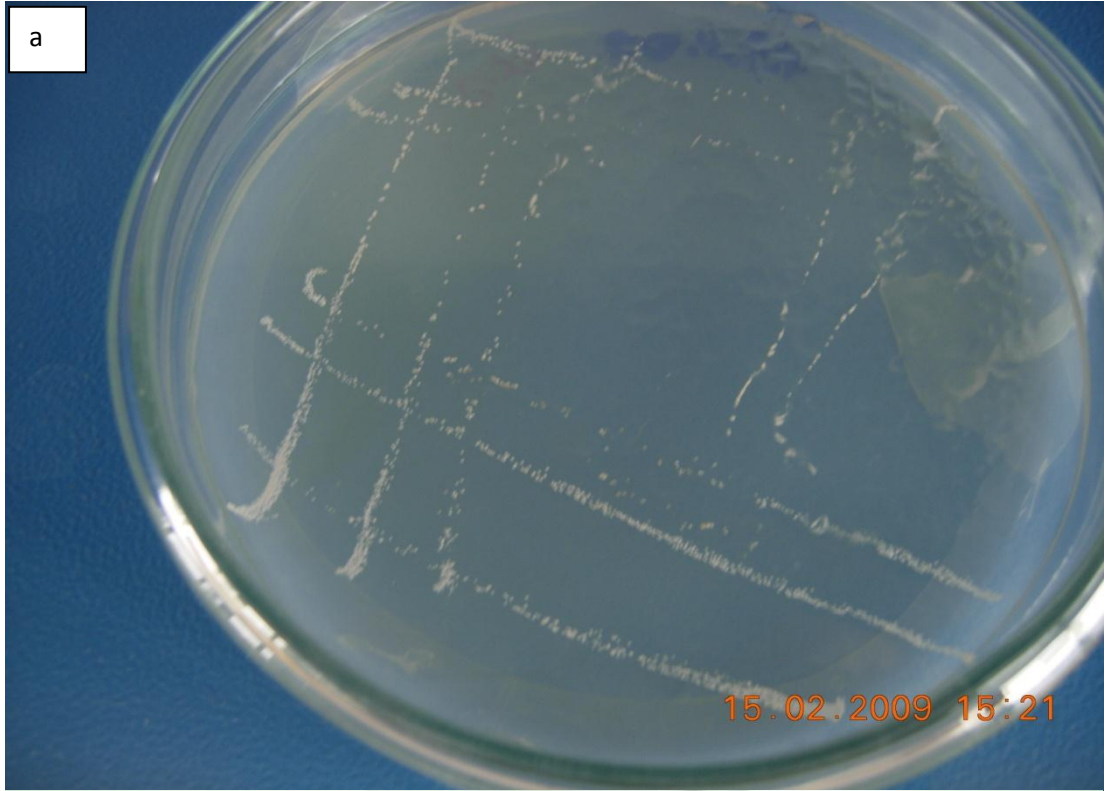
CATGCAAGTCGAGCGGGCGTAGCAATACGTCAGCGGCAGACGGGTGAGTAACACGTG  
GGAACGTACCTTTTGGTTCGGAACAACTGAGGGAACTTCAGCTAATACCGGATAAGCC  
CTAACGGGGAAAGATTTATCGCCGAAAGATCGGCCCGCGTCTGATTAGCTAGTTGGTG  
AGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCAGTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACA  
CTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGAC  
AATGGGGGCAACCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGAGTGATGAAGGCCCTAGGGTTGTA  
AAGCTCTTTTGTGCGGGAAGATAATGACGGTACCGCAAGAATAAGCCCCGGCTAACTC  
GTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAAGGGGGCTAGCGTTGCTCGGAATCACTGGGCGT  
AAAGGGTGCGTAGGCGGGTCTTTAAGTCAGGGGTGAAATCCTGGAGCTCAACTCCAGA  
ACTGCCTTTGATACTGAGGATCTTGAGTCCGGAAGAGGTGAGTGGAAGTGGAGTGTA  
GAGGTGAAATTCGTAGATATTCGCAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTCACTGGTCC  
GGTACTGACGCTGAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCaAACAGGATTAGATACCCTGGTAG  
TCCACGCTGTAAACGATGAATGCCAGCCGTtGGGGAGTTTACTCTTCAGTGGCGCAGTT  
AACGCTTTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGGTTCGCAAGATTAAGGAAATTG  
ACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGACGCAACGCGCAGAAC  
CTTACCAGCCCTTGACATCCCGGTTCGCGGTTCCAGAGATGGATTCTTCAGTTCGGCT

GGACCGGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTA  
AGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCGTCTTTAGTTGCTACCATTTAGTTGAGCACTCTAA  
AGAGACTGCCGGTGATAAGCCGCGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCCTCATGGC  
CCTTACGGGCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGGTGACAGAGGGACGCAAAGGC  
GCAAGCCTTCGCAAATCTCAAAAAGCCGTCTCAGTTCGGATTGGGCTCTGCAACTCGA  
GCCCATGAAGTTGGAATCGCTAGTAATCGCAGATCAGCATGCTGCGGTGAATACGTTC  
CCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTTGGCTTTACCTGAAGGCGGT  
GCGCTAACCAGCAATGGAGGCAGCCGACCACGGTAGGGTCAGCGACTGGGGTGAAGT  
CGTAACAAGG

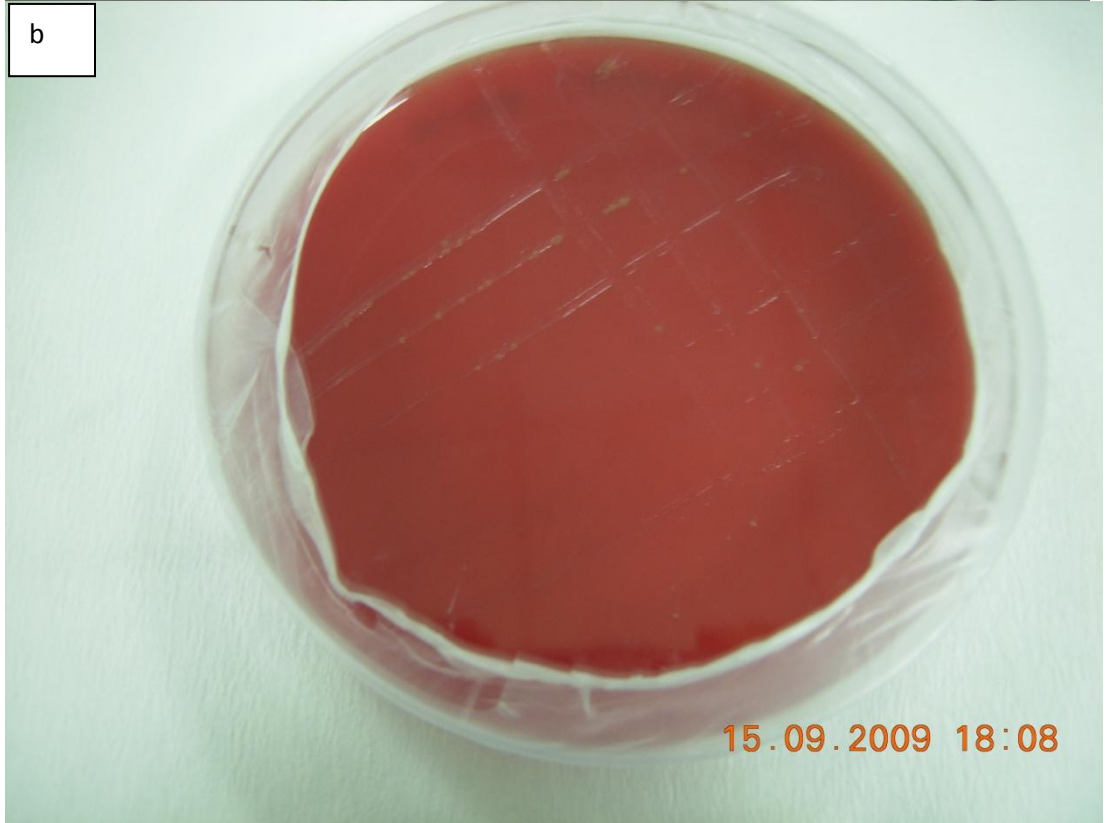
#### Ek 4. Bakteri Türlerinin Besi Yerinde Çekilmiş Fotoğrafi



Şekil Ek. 3. *Methlobacterium rhodaseium* a) Endosulfanlı agar, b) Kanlı agarda oluşturduğu koloniler.

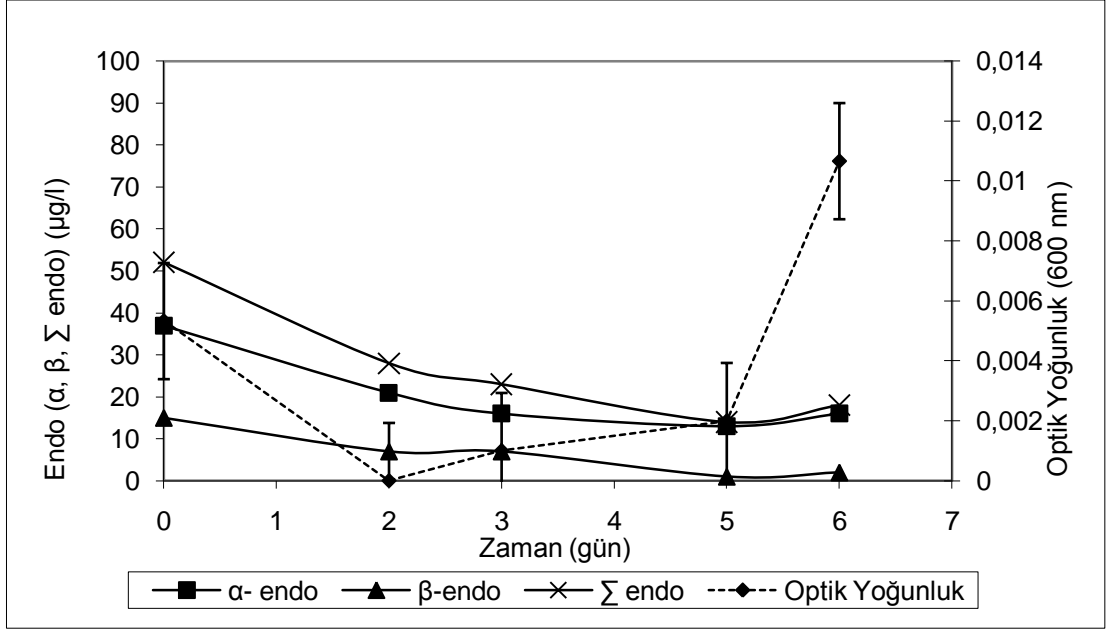


Şekil Ek. 4. *Afipia Genosp* a) Endosulfanlı agar, b) Kanlı agarda oluşturduğu koloniler.

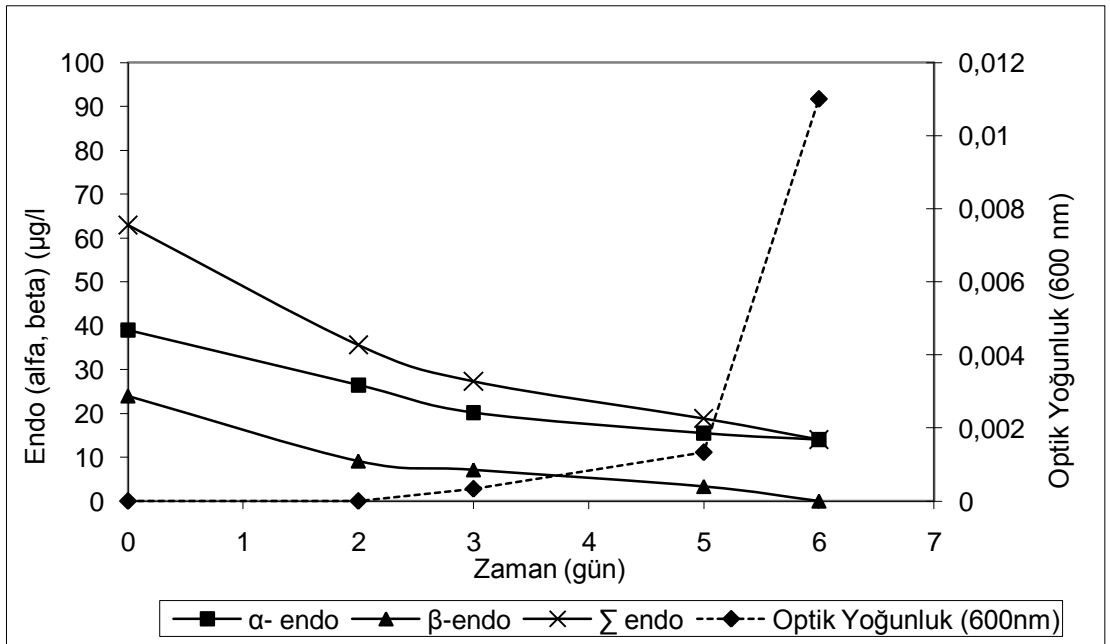


Şekil Ek. 5. *Sphingomonas yanoikuyae* Q1 a) Endosulfanlı agar, b) Kanlı agarda oluşturduğu koloniler.

## Ek 5. Endosulfan Parçalanması ve Optik Yoğunluk Grafiği



Şekil Ek.6. Karanlık ortamda çalışılan reaktör için endosulfan (alfa, beta) parçalanması ile optik yoğunluk (600nm) grafiği.



Şekil Ek. 7. Aydınlik ortamda çalışılan Reaktör için endo (alfa, beta) parçalanması ile optik yoğunluk (600nm) grafiği.

## Ek 6. Doğal zeolitin XRF ve XRD sonuçları

### 1) Rota Madencilik Tarafından Yaptırılmış Ürün Bilgisi



#### GENEL BİLGİ

Kimyasal İsim:	Kalsiyum, Potasyum, Sodyum Aluminosilikat	CAS No:	12173-10-3
Kimyasal Aile:	Doğal Zeolitler	EINECS No:	215-283-8
Kimyasal Özel İsim:	Klinoptilolit		
Kimyasal Formül:	$(Ca,K_2,Na_2,Mg)_4Al_6Si_{40}O_{96} \cdot 24H_2O$		

#### MİNERAL İÇERİK \*

Klinoptilolit	88 - 95 %	Montmorillonit	2 - 5 %	Muskovit	0 - 3 %
Feldispat	3 - 5 %	Kristobalit	0 - 2 %		

\* X Işınli Diffraksiyon Methodu kullanılarak Yarı-Kantitatif bütün kaya analizi (yığın mineralojisi) yapılmıştır.

#### KİMYASAL İÇERİK \*\*

SiO <sub>2</sub>	65 - 72 %	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0,8 - 1,9 %	MnO	0 - 0,08 %
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	10 - 12 %	MgO	0,9 - 1,2 %	LOI***	9 - 12 %
CaO	2,5 - 3,7 %	Na <sub>2</sub> O	0,3 - 0,65 %		
K <sub>2</sub> O	2,3 - 3,5 %	TiO <sub>2</sub>	0 - 0,1 %	SiO <sub>2</sub> /Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	5,4 - 6,0

\*\* XRF Spektrometresi ile analiz edilmiştir.

\*\*\* Loss of Ignition (Kızdırma Kaybı)

#### FİZİKSEL ÖZELLİKLER

Görünüm	Fildişi Beyazı	Yağ Absorpsiyonu (ml/100g)	57	Çözünürlük	Yok
Koku	Yok	Aşınma (mg/100g)	87	Plastiklik	Minor
Porozite	45 - 50 %	Tek nokta Yüzey Alanı	39 m <sup>2</sup> /g	Yumuşama	1150 °C
Sertlik	2 - 3 Mohs	Mikropor Alanı	11 m <sup>2</sup> /g	Erime	1300 °C
Çamurlaşma	None	Mezopor Alanı	29 m <sup>2</sup> /g	Yığın Yoğunluğu	650 - 850 kg / m <sup>3</sup>
Su Absorpsiyonu	42 - 50 %	Etkin Por Çapı	4 angström	pH	7,0 - 8,0

#### KATYON DEĞİŞTİRME KAPASİTESİ (CEC) †

Toplam CEC: 1,5 - 1,9 meq/g

† Methylene Blue Chloride Metodu

#### Ana Değiştirilebilir Katyonlar

Rb, Li, K, Cs, NH<sub>4</sub>, Na, Ca, Ag, Cd, Pb, Zn, Ba, Sr, Cu, Hg, Mg, Fe, Co, Al, Cr.

(Yukarıdaki katyonların seçiciliği, göreceli konsantrasyonları ve su ile birleşik [hidrate] molekül boyutunun bir fonksiyonudur.)

#### Seçicilik

Cs<sup>+</sup> > NH<sub>4</sub><sup>+</sup> > Pb<sup>2+</sup> > K<sup>+</sup> > Na<sup>+</sup> > Ca<sup>2+</sup> > Mg<sup>2+</sup> > Ba<sup>2+</sup> > Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>

#### Birincil Soğurulan Gazlar

CO, CO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S, NH<sub>3</sub>, HCHO, Ar, O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, He, H<sub>2</sub>, Kr, Xe, CH<sub>2</sub>OH, Freonlar, Formaldehit.

Yukarıda verilen bilgiler genel fikir vermek amaçlı olup, ürünün doğası gereği değişiklik gösterebilirler. Bilgiler öneri seviyesinde olmakla birlikte, sonuçların kesinliği adına bir garanti sunulmamaktadır. Kullanımdan önce, müşteri, ürünün uygunluğu ve etkinliğine karar vermekle yükümlüdür. Kullanıcı oluşabilecek risk ve sorumlulukları üstlenir. Rota Madencilik yukarıda belirtilen özellikleri değiştirme hakkına sahiptir.


Rota Madencilik Tarım Hayvancılık Pazarlama ve Nakliyat Dış Ticaret Anonim Şirketi

Tütüncü Mehmet Efendi Cad. Tepe Apt. No: 118 D: 5 Göztepe / İstanbul / Türkiye

P: 00 90 216 385 1600 F: 00 90 216 385 4297

<http://www.rotamadencilik.com/>

## 2. Doğal Zeolitin Maden Teknik Arama Laboratuvarında yaptırılan XRF ve XRD sonuçları



**ENERJİ VE TABİİ KAYNAKLAR BAKANLIĞI**  
**MADEN TETKİK VE ARAMA GENEL MÜDÜRLÜĞÜ**  
**Maden Analizleri ve Teknolojisi Dairesi Başkanlığı**  
Üniversiteler Mahallesi Dumlupınar Bulvarı No : 139 06800 Çankaya/ANKARA

MTA
Rapor No 1404
Rapor Tarihi 14/05/2010

**ANALİZ/ TEST RAPORU**  
ANALYSIS/TEST REPORT

Sayfa 1 / 1  
Page 1 of 1

**Müşterinin Adı/ Adresi** : Ayla BİLGİN  
*Customer Name/ Address* Hacettepe Üniversitesi Çevre Mühendisliği Bölümü Beytepe / ANKARA

**Proje Kodu** : 20  
*Project Code*

**Numune Kayıt No/ Tarih** : 10-H-1953 / 10.05.2010  
*No. of receipt of sample / date*

**Numunenin Tanımı ve Cinsi** : Zeolit  
*Identity and type of Sample*

**Analiz/ Testin Yapıldığı Tarih** : 14 /05/2010  
*Date Of Analysis/ Test*

**Raporun Sayfa Sayısı** : 1  
*Number of pages of the Report*

**Açıklamalar** : Numune, 105°C'de kurutulmuştur. Analiz, XRF cihazında IQ+ (Standartsız program )  
*Remarks* programında yapılmıştır.

**Analiz/ Test Sonuçları (%)**  
*Analysis/ Test Results*


Numune No	Numune İşareti	Na <sub>2</sub> O	MgO	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	SiO <sub>2</sub>	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	CaO	TiO <sub>2</sub>	MnO	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	A.Za.
10-H-1953	Ayla Bilgin	0.5	1.2	11.5	70.9	0.1	2.1	2.8	0.1	0.1	1.2	9.45

*Yasemin Özdemir*  
**Analiz/ Test Sorumlusu**  
*Person in charge of analysis/ test*  
Yasemin ÖZDEMİR  
Fizik Mühendisi

*Dilara Özşuca*  
**Birim Yöneticisi**  
*Supervisor of laboratory*  
Dilara ÖZŞUCA

*Sema Atlıhan*  
**Koordinatör**  
*Head of laboratory*  
Sema ATLIHAN

**Mühür**  
*Seal*



Bu rapor 1 asıl 1 kopya olarak hazırlanmış olup laboratuvarın yazılı izni olmadan kısmen de olsa kopyalanıp çoğaltılamaz. İmzasız ve mührsüz rapor geçersizdir. Sonuçlar sadece analiz/ testi yapılan numuneye aittir.  
This report, which is prepared as 1 original and 1 copy, shall not be reproduced, even partially, except with the permission of the laboratory. Report without signature and seal are not valid. Results are valid for only analysed/ tested sample.

Tel: 90 312 201 10 00

Fax: 90 312 287 54 09

Web sitesi: <http://www.mta.gov.tr>

E-mail: [mta@mta.gov.tr](mailto:mta@mta.gov.tr)



T.C.  
ENERJİ VE TABİİ KAYNAKLAR BAKANLIĞI  
MADEN TETKİK VE ARAMA GENEL MÜDÜRLÜĞÜ  
Maden Analizleri ve Teknolojisi Dairesi Başkanlığı  
Üniversiteler Mahallesi Dumlupınar Bulvarı No: 139 06800 Çankaya/ANKARA

ANALİZ/TEST RAPORU  
ANALYSIS/TEST REPORT

MTA

Rapor No

1404

Rapor Tarihi  
17/05/2010

Sayfa 1/1  
Page 1 of 1

Müşterinin Adı/Adresi : AYL A BİLGİN  
Customer Name/Address Hacettepe Üniversitesi Çevre Mühendisliği Bölümü Beytepe-ANKARA

Proje Kodu : 20  
Project Code

Numune Kayıt No/Tarih : 10-H 1953-10/05/2010  
No. of receipt of sample/Date

Analiz/Testin Yapıldığı Tarih : 11/05/2010-17/05/2010  
Date of Analysis/Test

Numunenin Tanımı ve Cinsi : Zeolit  
Identity and type of sample

Raporun Sayfa Sayısı : 1  
Number of pages of the Report

Açıklamalar :  
Remarks

Analiz/Test Sonuçları  
Analysis/Test Results

İşareti aşağıda yazılı 1 adet örneğin Cu X-ışın tüplü Rigaku DMAX III C XRD analiz cihazı ile 2-70° arasında gerçekleştirilen XRD analiz sonucu:

10-H 1953 "Ayla Bilgin"

1. Klinoptilolit (ASTM No: 00-013-0304),
2. Feldispat grubu mineral,
3. Çok az simektit grubu kil minerali,
4. Amorf madde.

(ASTM No: ASTM Kart Numarasıdır. Grup Minerallerinde ASTM kart numarası verilememektedir.)

Analiz/Test Sorumlusu  
Person in charge of analysis/test  
Dr. Mustafa ALBAYRAK  
Jeoloji Yüksek Mühendisi

Birim Yöneticisi  
Supervisor of laboratory  
Gökçe GÜRTEKİN

Koordinatör  
Head of laboratory  
Okan ZİMİTOĞLU

17 Mayıs 2010  
Mühür Tarih  
Seal Date

Bu rapor 1 asıl 1 kopya olarak hazırlanmış olup laboratuvarın yazılı izni olmadan kısmen de olsa kopyalanıp çoğaltılamaz. İmzasız ve mühürsüz rapor geçersizdir. Sonuçlar sadece analiz/testi yapılan numuneye aittir.  
This report, which is prepared as 1 original and 1 copy, shall not be reproduced, even partially, except with the permission of the laboratory. Report without signature and seal is not valid. Results are valid for only analysed/tested sample.

Tel: 90 312 201 10 00

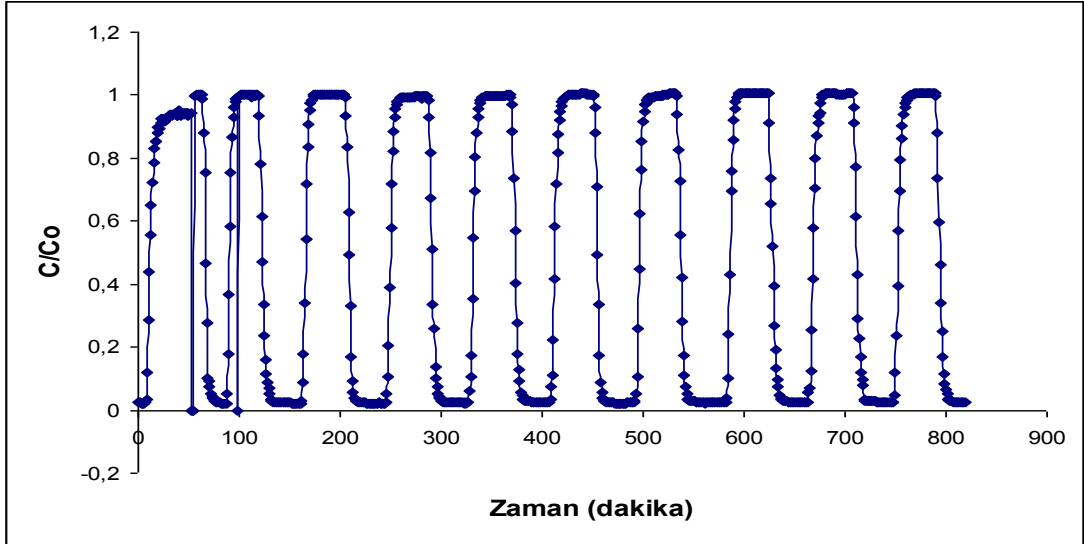
Fax: 90 312 287 54 09

Web sitesi: <http://www.mta.gov.tr>

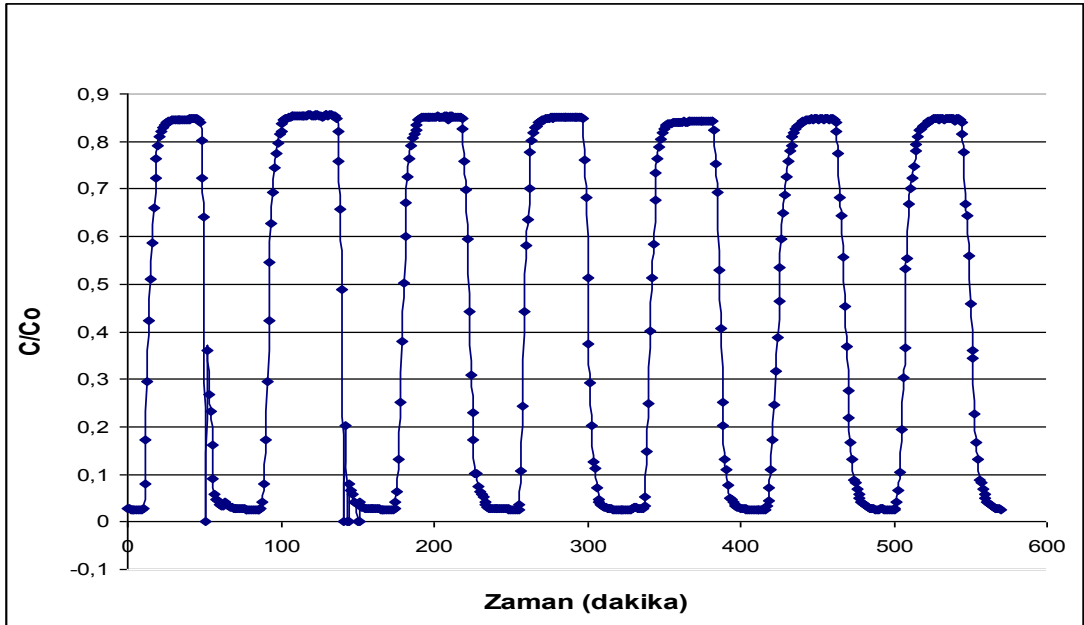
E-mail: [mta@mta.gov.tr](mailto:mta@mta.gov.tr)

KY PR.5.10.2 Rev.No/Tarih: 03/17.07.2009

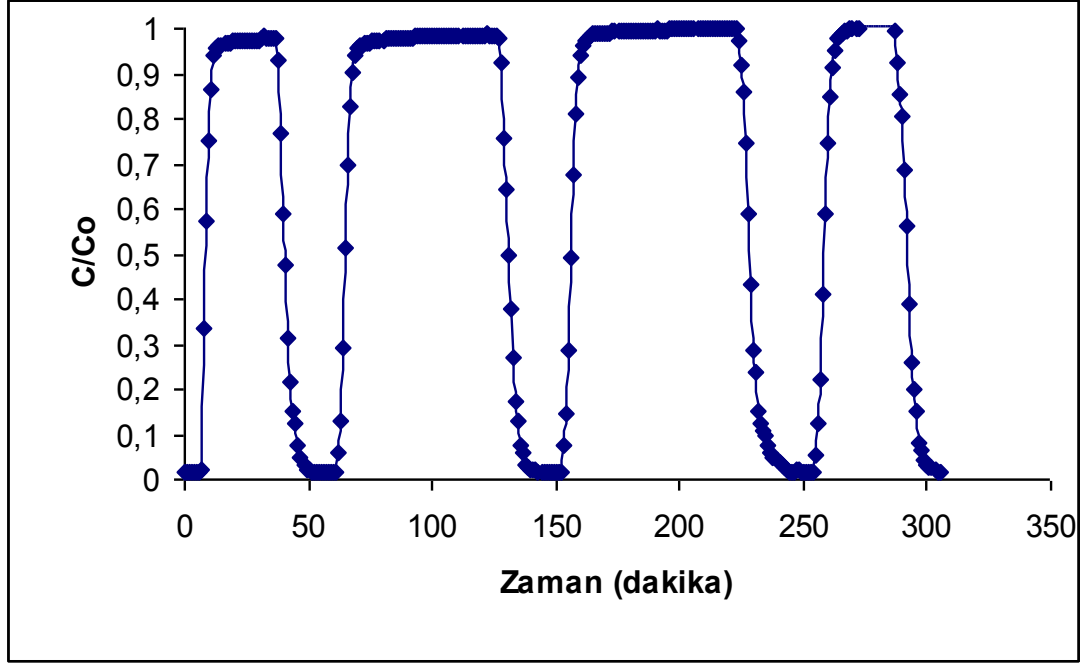
## Ek 7. İzleyici Test Grafikleri



Şekil Ek. 8. (1g/L) NaCl ile yapılan toplam 10 set izleyici deney grafiği.

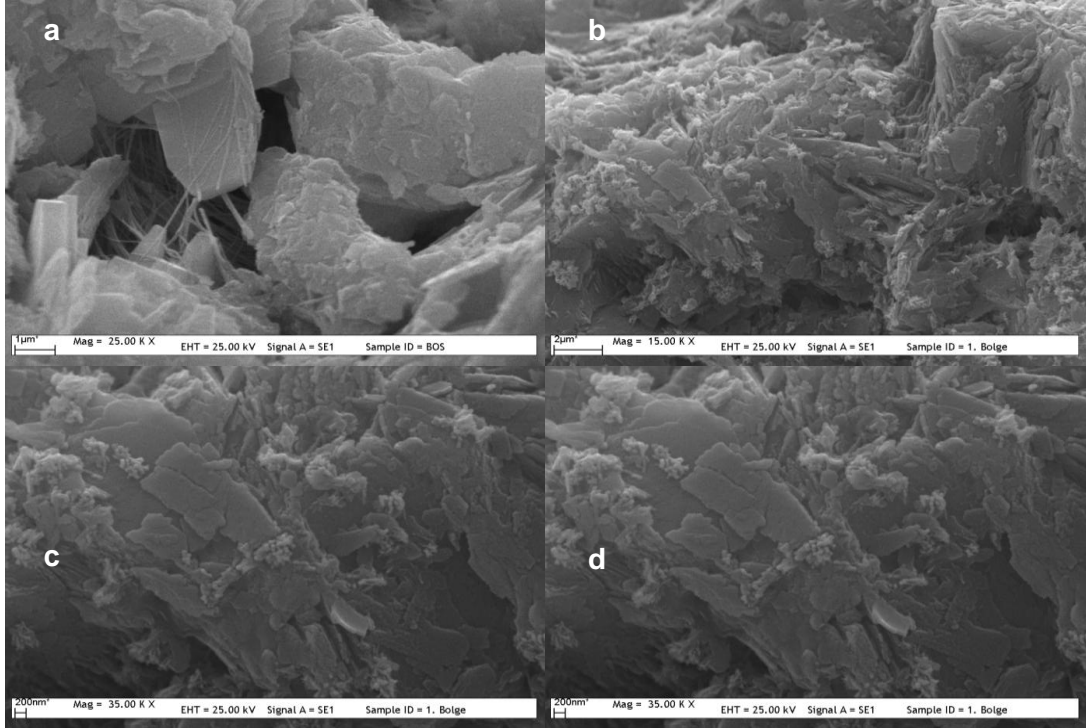


Şekil Ek. 9.(1g/L) KCl ile yapılan toplam 7 set izleyici deney grafiği.

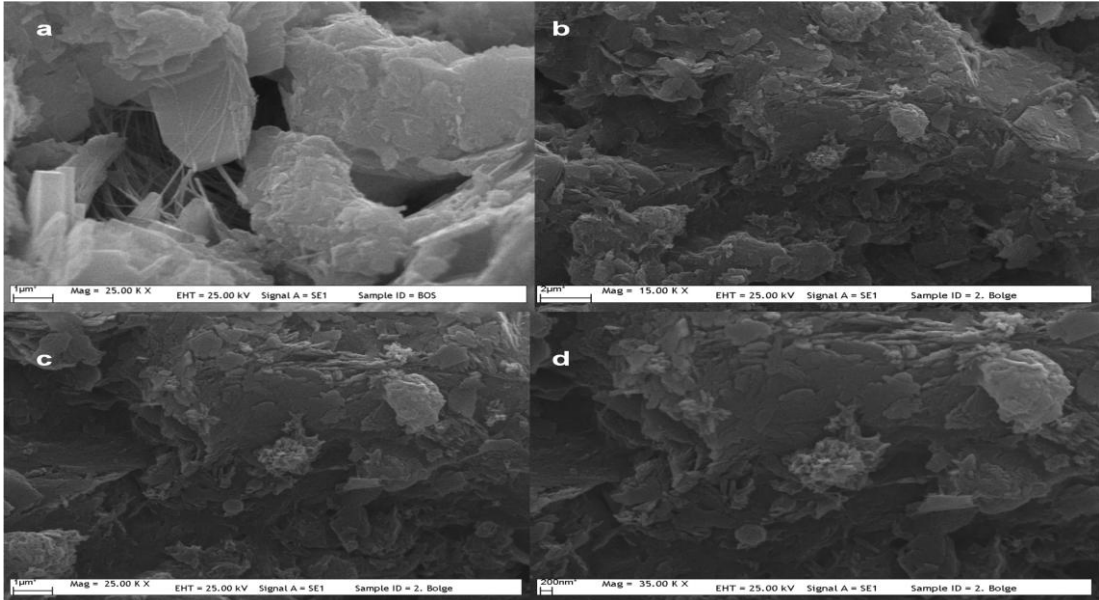


Şekil Ek. 10. (1g/L)  $CaCl_2$  ile yapılan toplam 4 set izleyici deney grafiği.

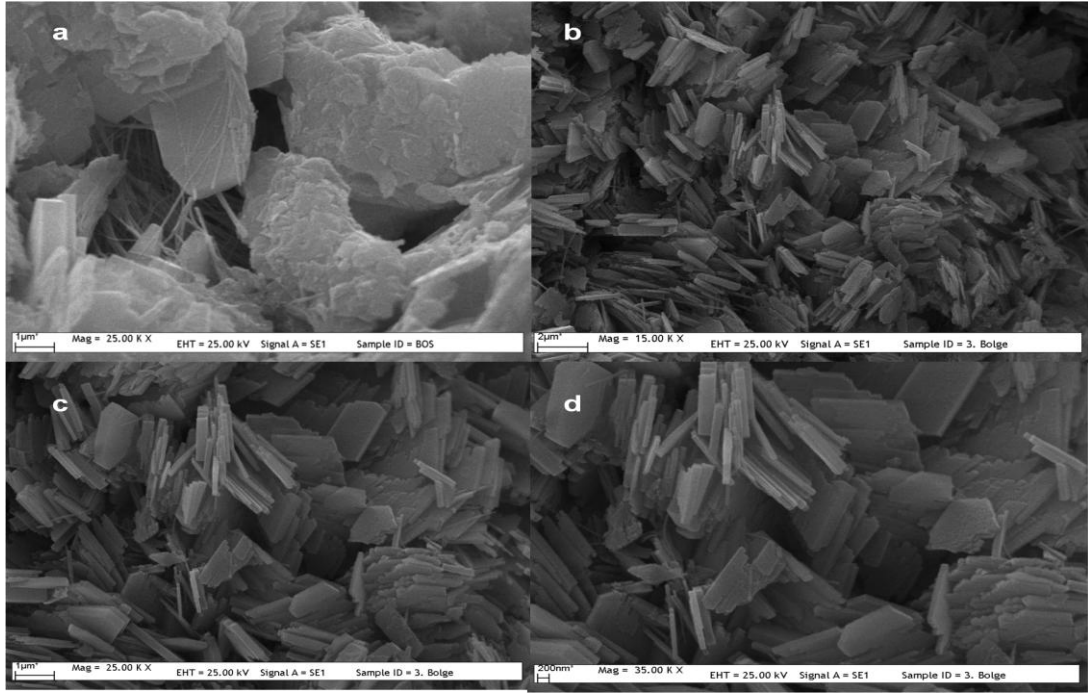
## Ek 8. SET 1. Birinci Kolon Reaktör Elektron Mikroskop Görüntüleri



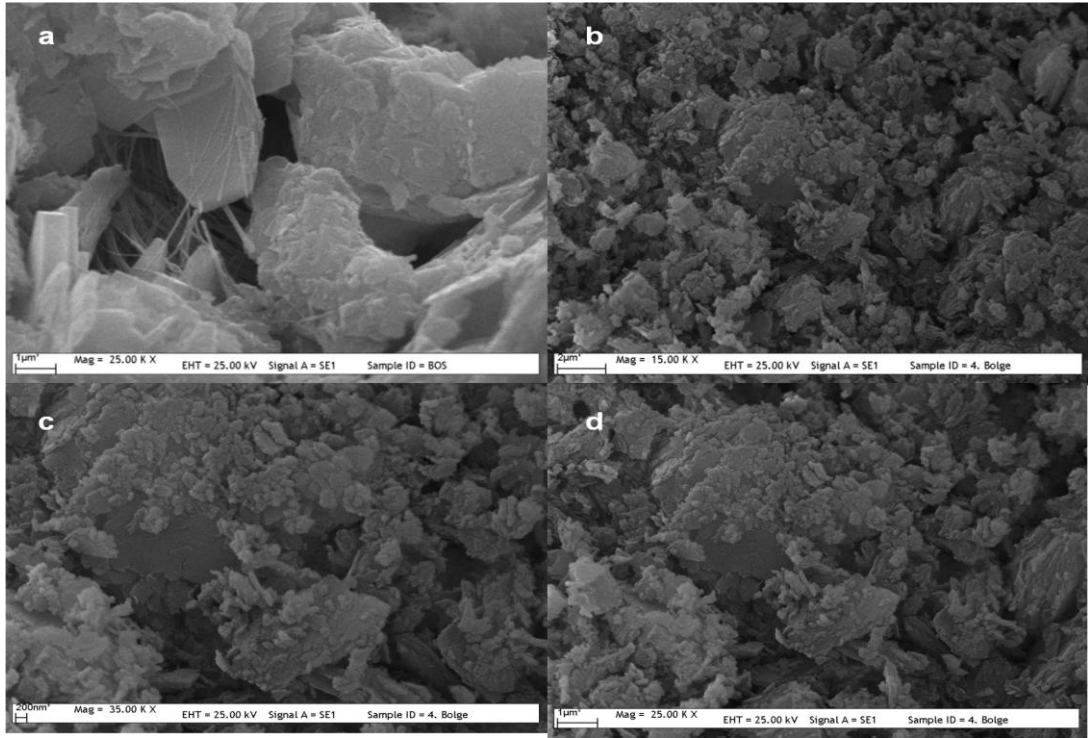
Şekil Ek. 11. Kolon 1 için 1. Bölgeden alınan zeolit örneğindeki biofilm gelişimi. a) boş zeolit b,c,d) zeolit üzerinde biofilm gelişimi.



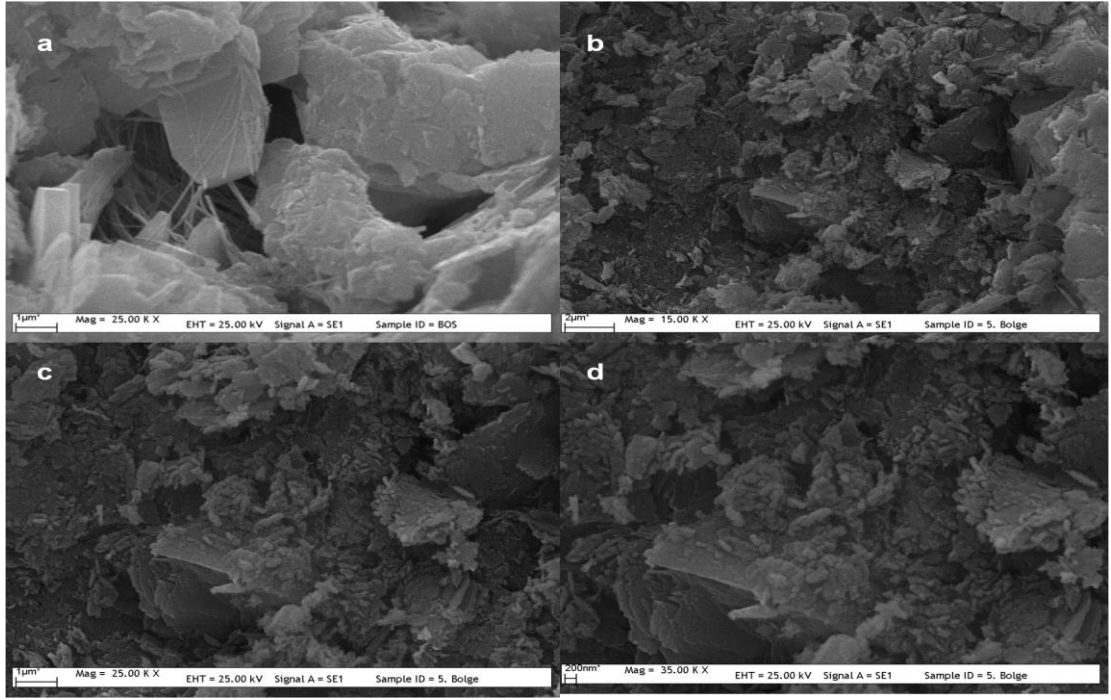
Şekil Ek. 12. Kolon 1 için 2. Bölgeden alınan zeolit örneğindeki biofilm gelişimi. a) boş zeolit- b,c,d) zeolit üzerinde biofilm gelişimi.



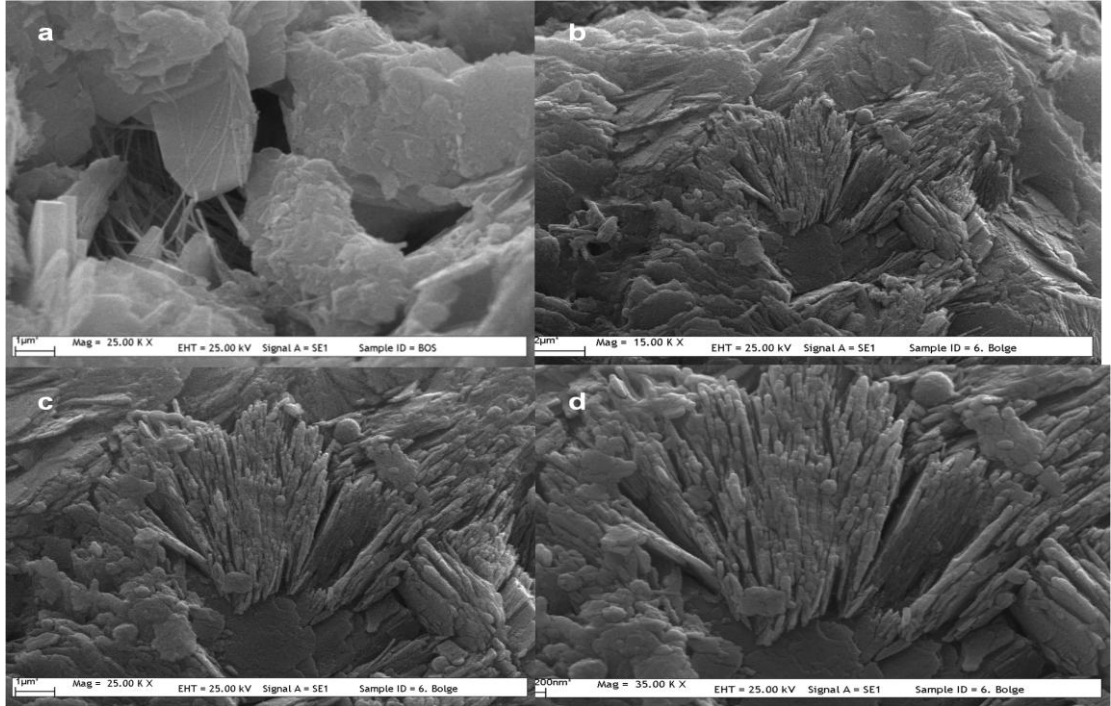
Şekil Ek. 13. Kolon 1 için 3. Bölgeden alınan zeolit örneğindeki biofilm gelişimi.a)boş zeolit,- b,c,d) zeolit üzerinde biofilm gelişimi.



Şekil Ek. 14. Kolon 1 için 4. Bölgeden alınan zeolit örneğindeki biofilm gelişimi.a)boş zeolit,- b,c,d) zeolit üzerinde biofilm gelişimi.

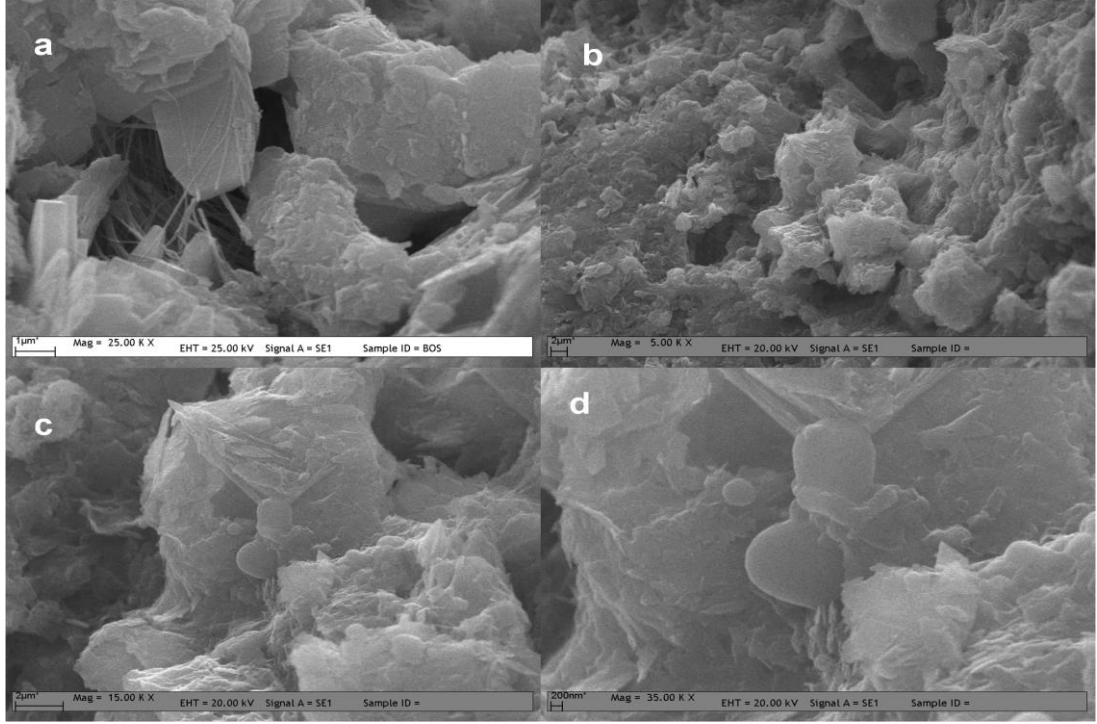


Şekil Ek. 15. Kolon 1 için 5. Bölgeden alınan zeolit örneğindeki biofilm gelişimi. a) boş zeolit,- b,c,d) zeolit üzerinde biofilm gelişimi.

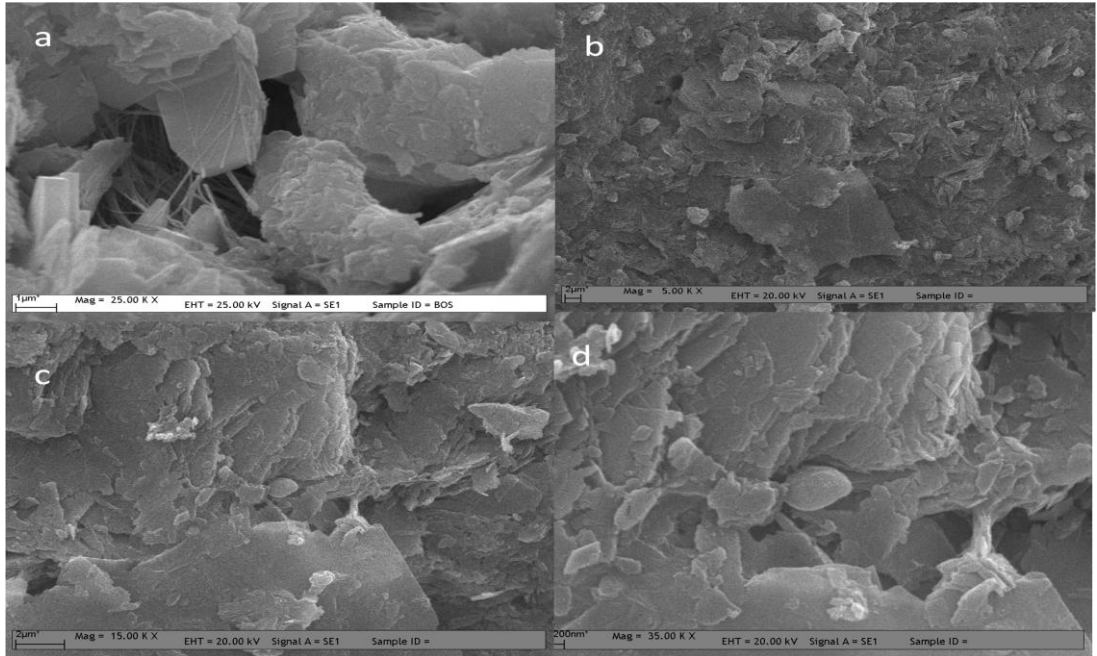


Şekil Ek. 16. Kolon 1 için 6. Bölgeden alınan zeolit örneğindeki biofilm gelişimi. a) boş zeolit,- b,c,d) zeolit üzerinde biofilm gelişimi.

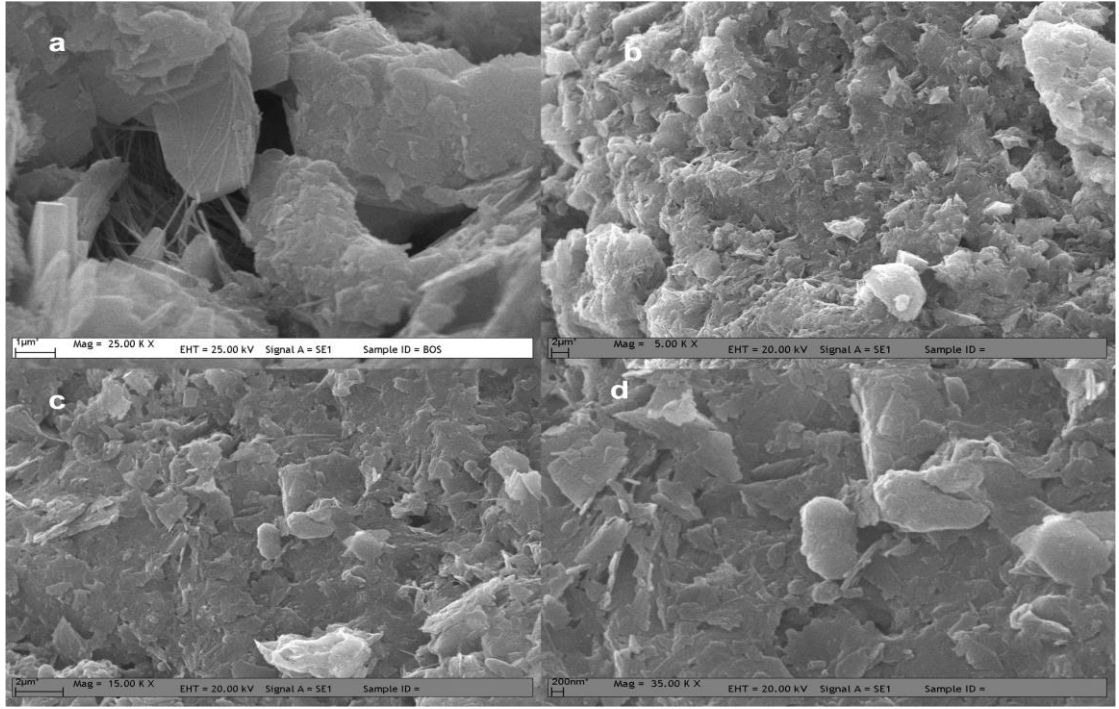
## Ek 9. SET 2 İkinci Kolon Reaktör Elektron Mikroskop Görüntüleri



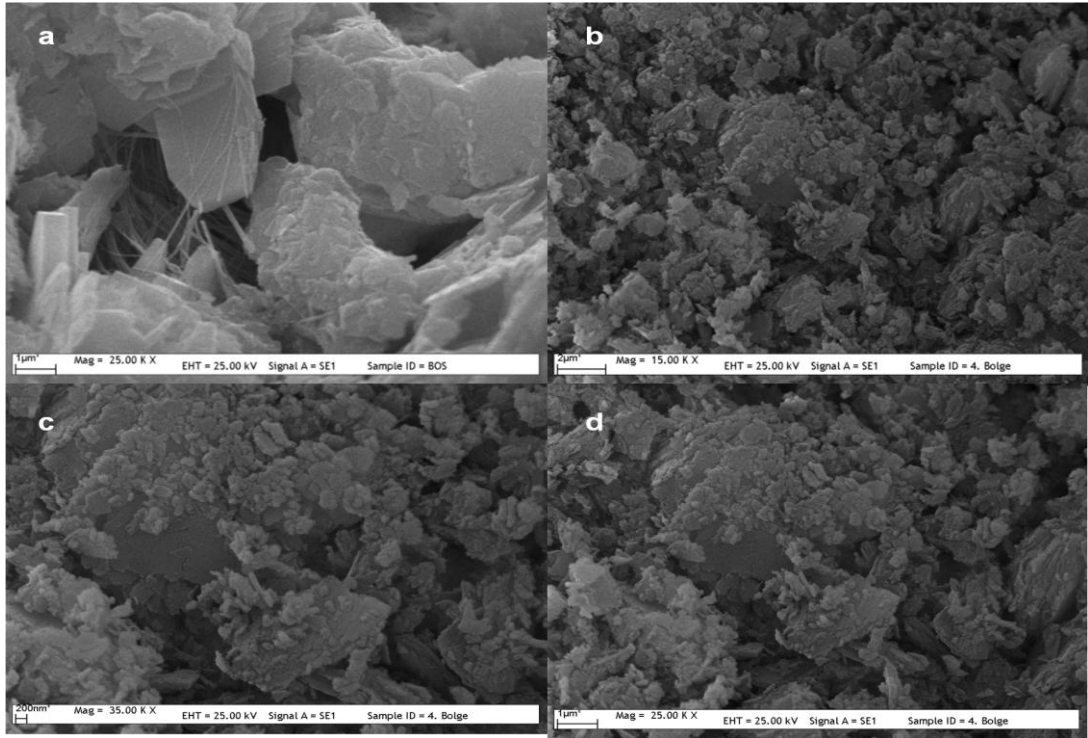
Şekil Ek. 17. Kolon 1 için 1. Bölgeden alınan zeolit örneğindeki biofilm gelişimi. a) boş zeolit, - b, c, d) zeolit üzerinde biofilm gelişimi.



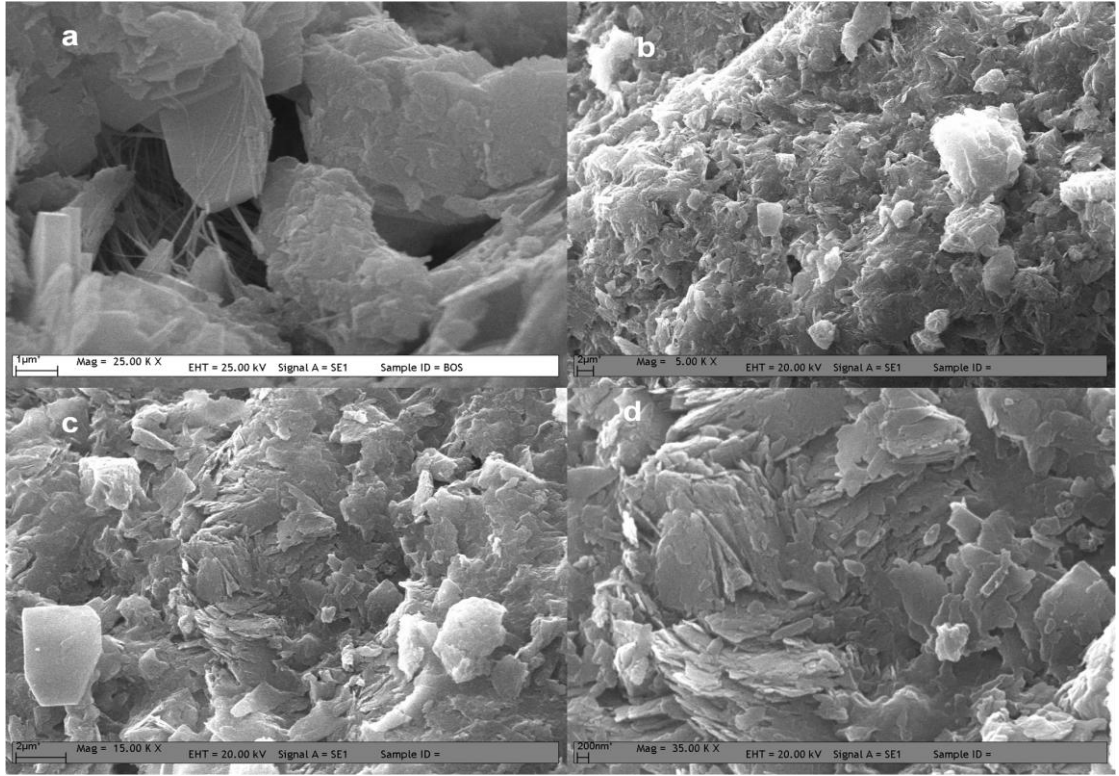
Şekil Ek. 18. Kolon 1 için 2. Bölgeden alınan zeolit örneğindeki biofilm gelişimi. a) boş zeolit, - b, c, d) zeolit üzerinde biofilm gelişimi.



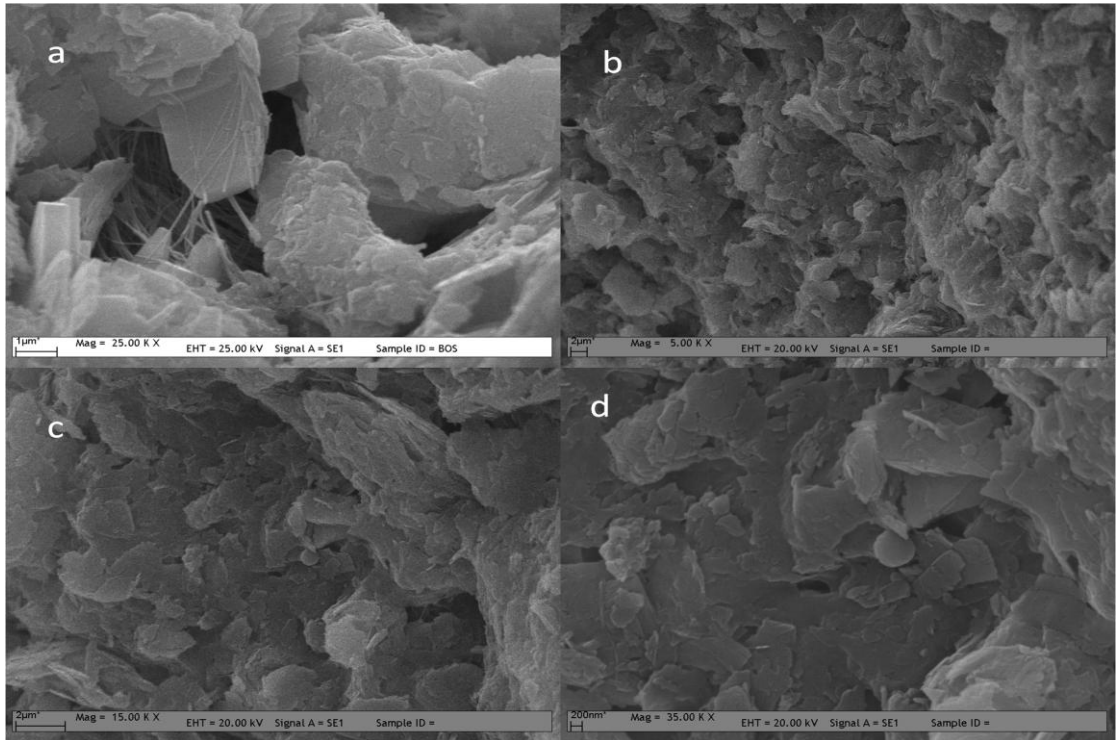
Şekil Ek. 19. Kolon 1 için 3. Bölgeden alınan zeolit örneğindeki biofilm gelişimi. a) boş zeolit, - b, c, d) zeolit üzerinde biofilm gelişimi.



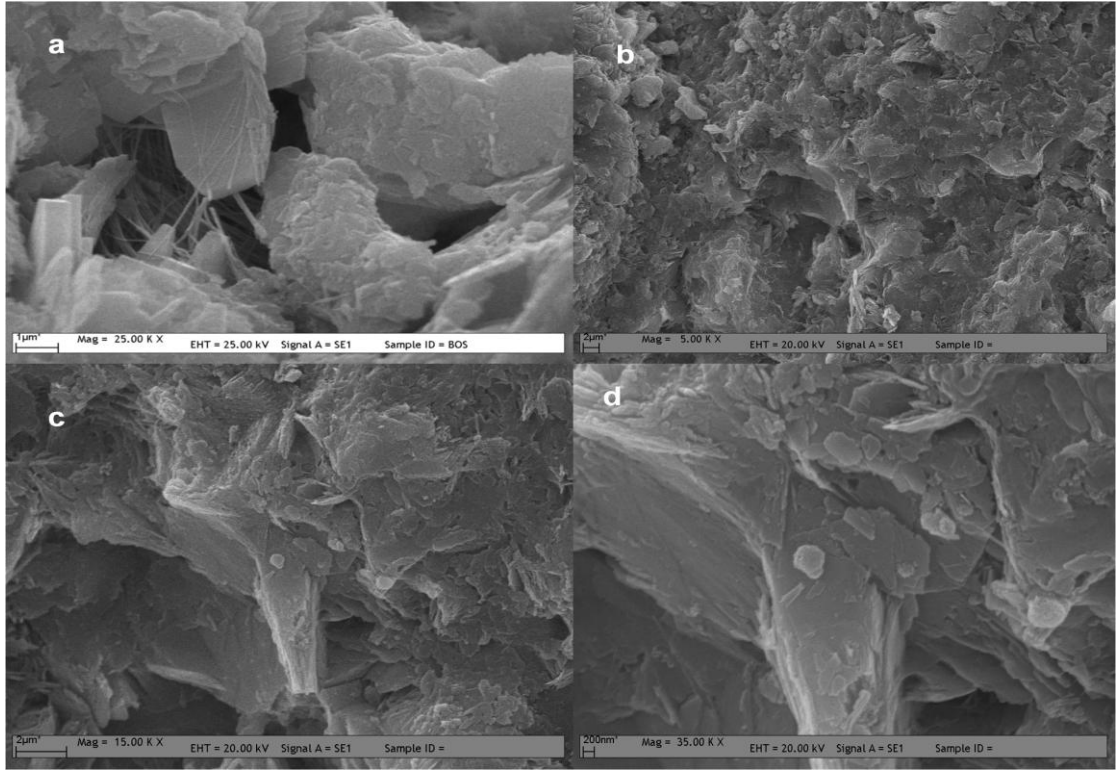
Şekil Ek. 20. Kolon 1 için 4. Bölgeden alınan zeolit örneğindeki biofilm gelişimi. a) boş zeolit, - b, c, d) zeolit üzerinde biofilm gelişimi.



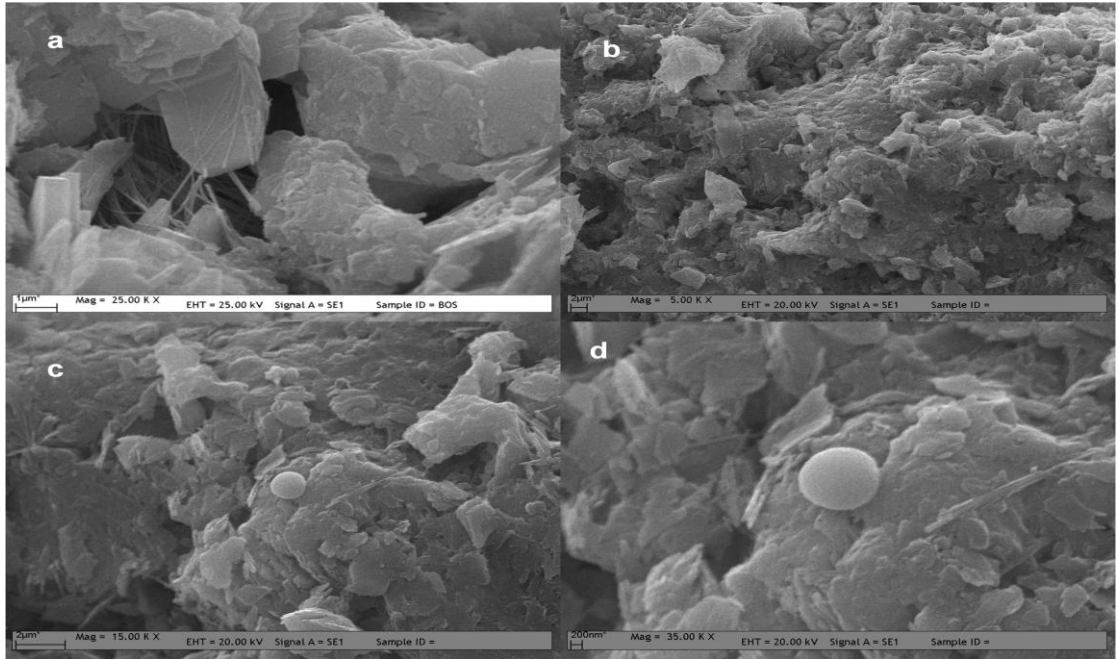
Şekil Ek. 21. Kolon 1 için 5. Bölgeden alınan zeolit örneğindeki biofilm gelişimi. a) boş zeolit,- b,c,d) zeolit üzerinde biofilm gelişimi.



Şekil Ek. 22. Kolon 1 için 6. Bölgeden alınan zeolit örneğindeki biofilm gelişimi. a) boş zeolit,- b,c,d) zeolit üzerinde biofilm gelişimi.

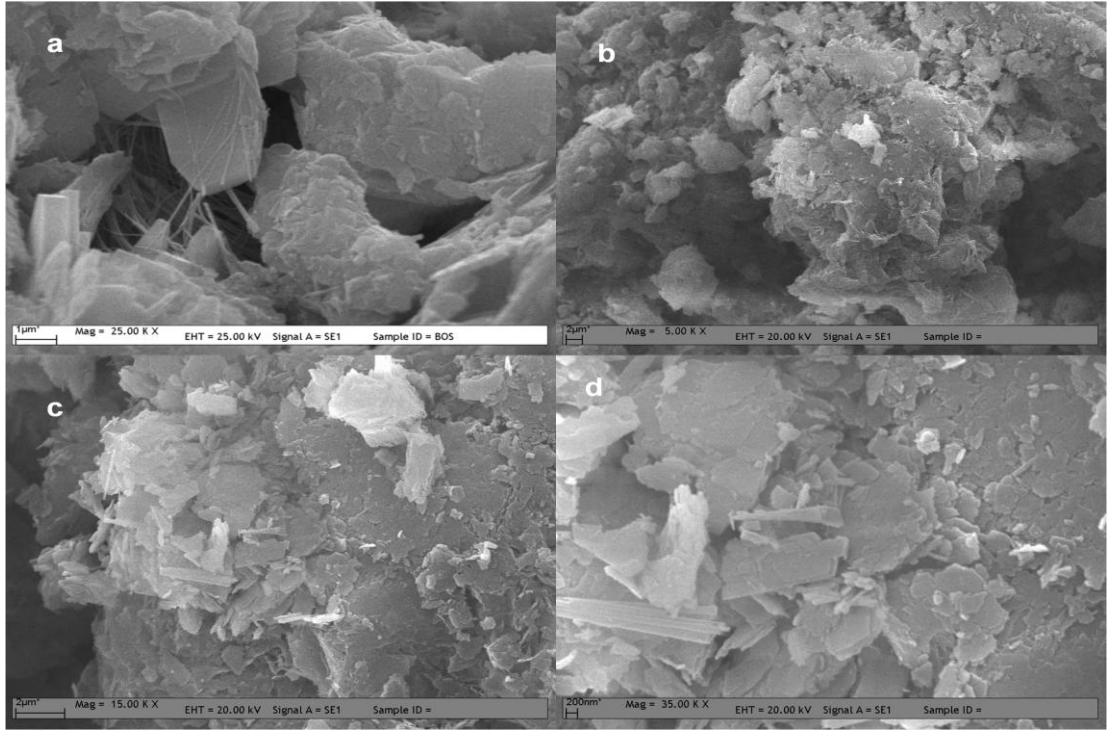


Şekil Ek. 23. Kolon 1 için 1. Bölgeden alınan zeolit örneğinin 105<sup>0</sup>C'de 24 saat bekletilmesi sonucu çekilen SEM fotoğrafı a)boş zeolit,- b,c,d) zeolit üzerinde biofilm gelişimi.

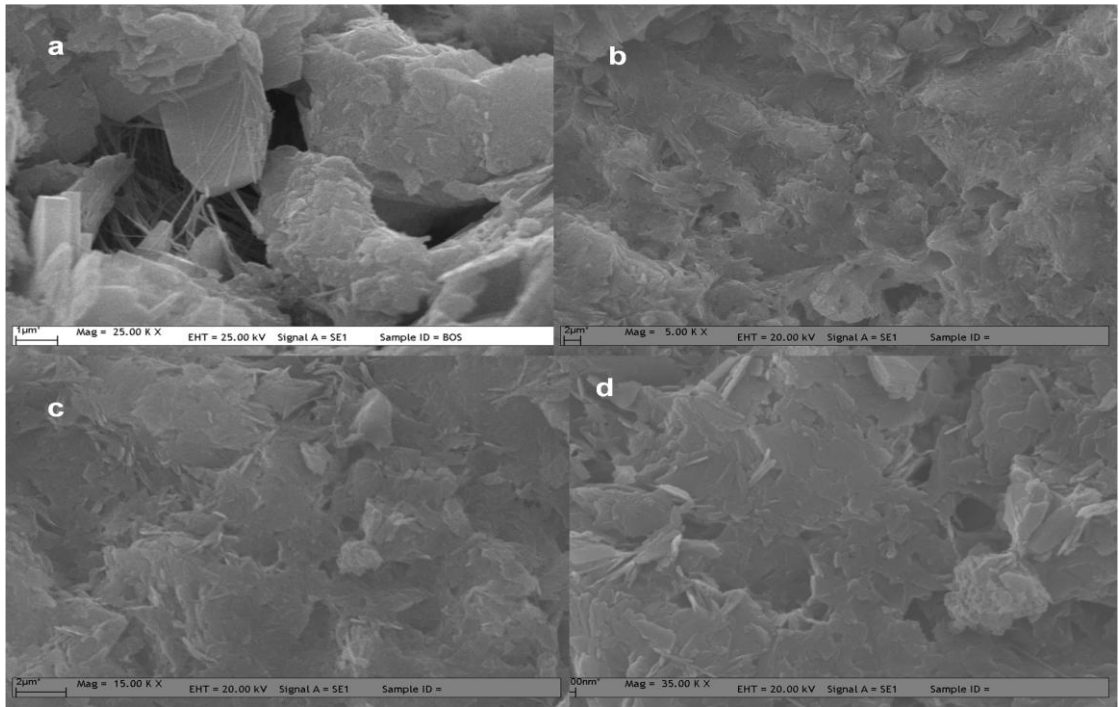


Şekil Ek. 24. Kolon 1 için 3. Bölgeden alınan zeolit örneğinin 105<sup>0</sup>C'de 24 saat bekletilmesi sonucu çekilen SEM fotoğrafı a)boş zeolit,- b,c,d) zeolit üzerinde biofilm gelişimi

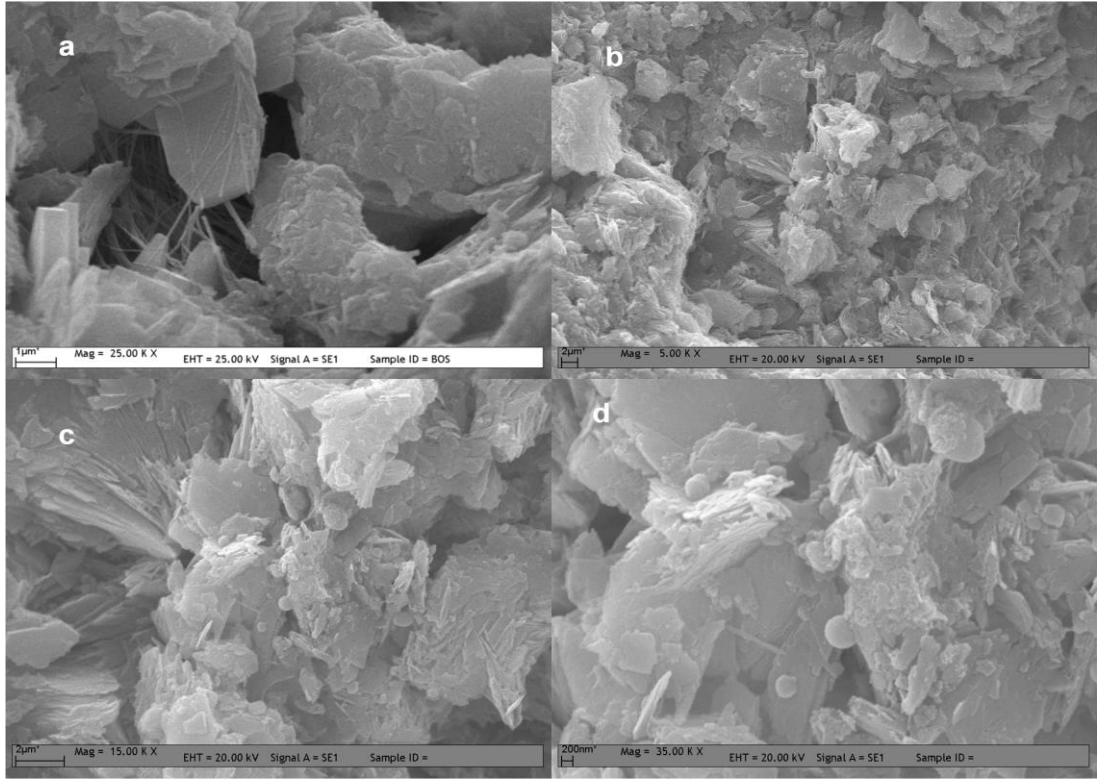




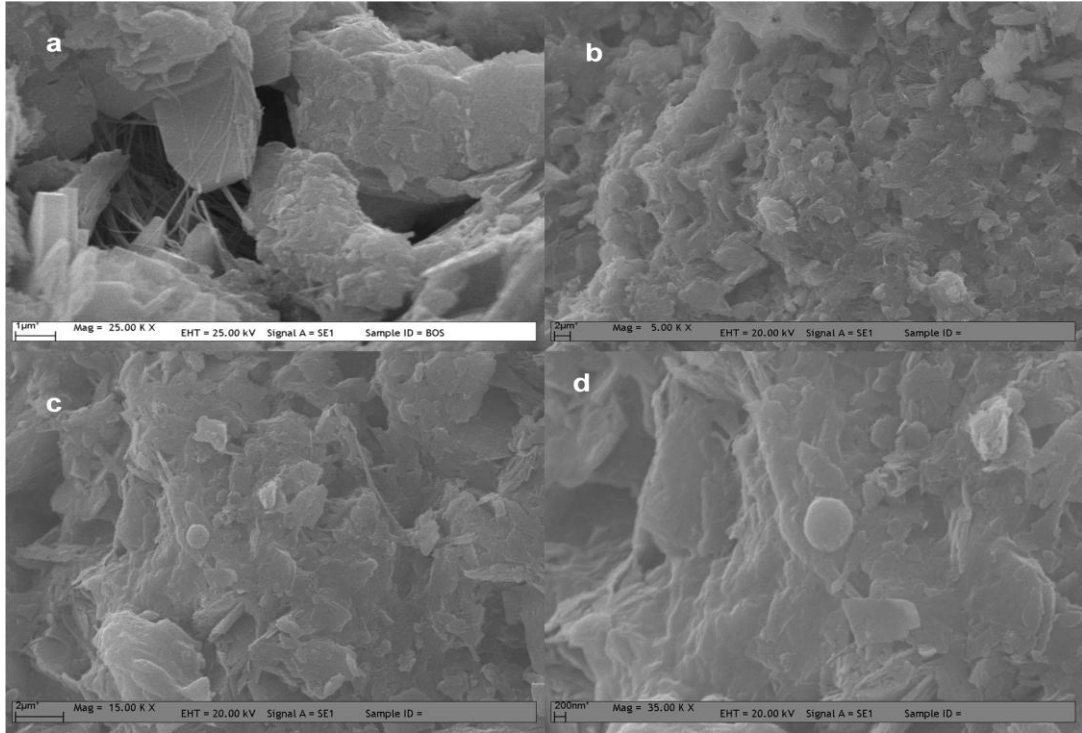
Şekil Ek. 27. Kolon 1 için 3. Bölgeden alınan zeolit örneğinin 550<sup>0</sup>C'de 5 saat yanması sonucu çekilen SEM fotoğrafı a)boş zeolit,- b,c,d) zeolit üzerinde biofilm gelişimi.



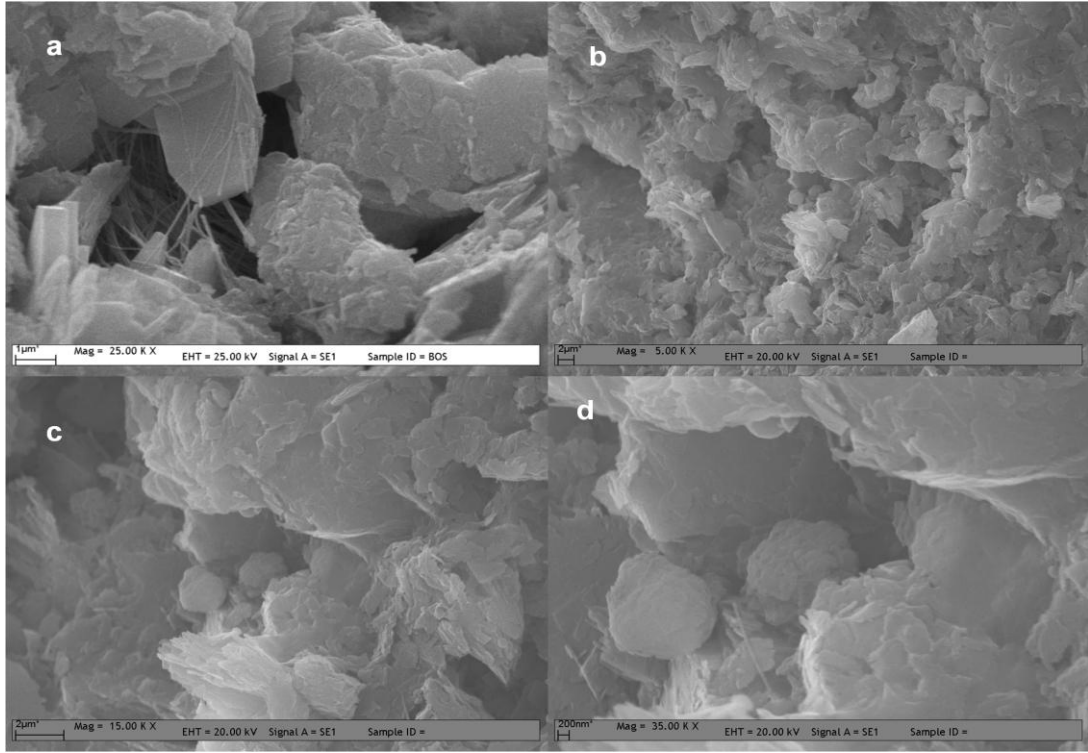
Şekil Ek. 28. Kolon 1 için 6. Bölgeden alınan zeolit örneğinin 550<sup>0</sup>C'de 5 saat yanması sonucu çekilen SEM fotoğrafı a)boş zeolit,- b,c,d) zeolit üzerinde biofilm gelişimi.



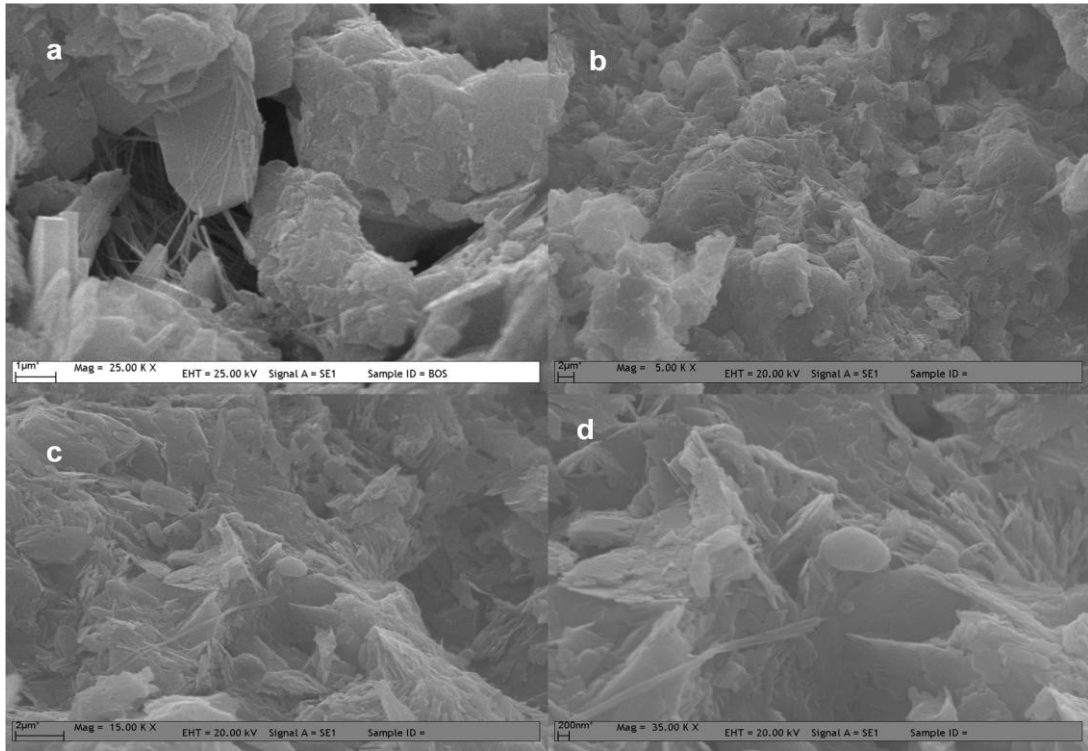
Şekil Ek. 29. Kolon 2 için 1. Bölgeden alınan zeolit örneğindeki biofilm gelişimi. a) boş zeolit,- b,c,d) zeolit üzerinde biofilm gelişimi.



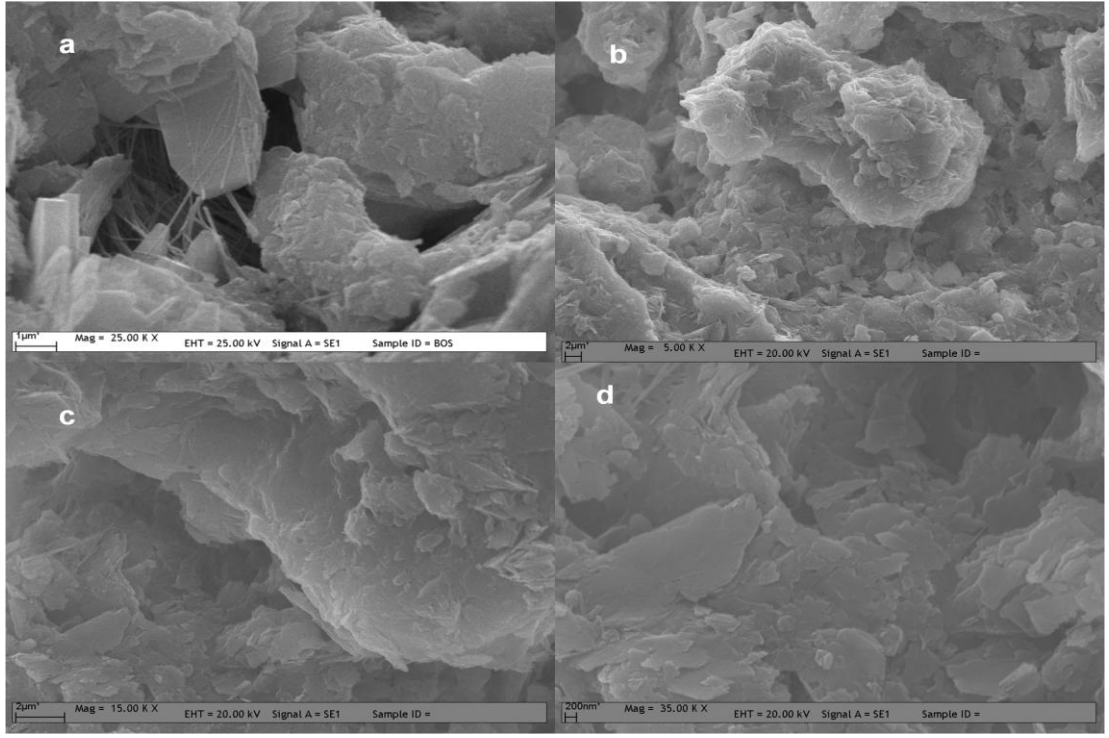
Şekil Ek. 30. Kolon 2 için 2. Bölgeden alınan zeolit örneğindeki biofilm gelişimi. a) boş zeolit,- b,c,d) zeolit üzerinde biofilm gelişimi.



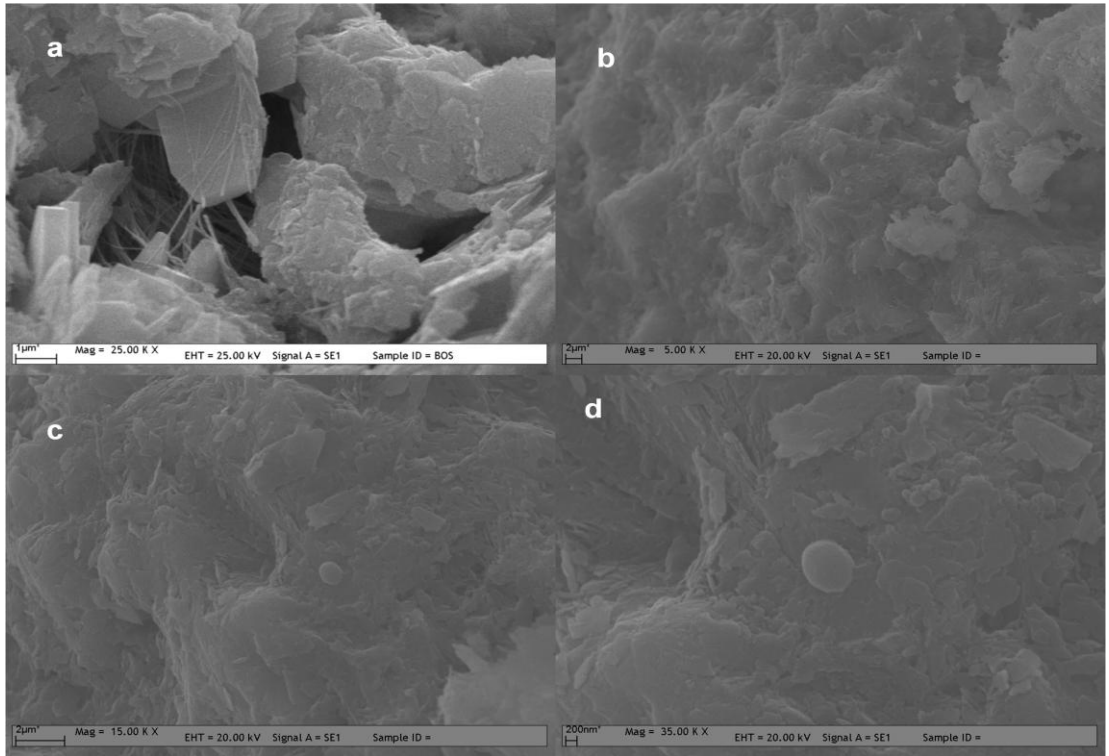
Şekil Ek. 31. Kolon 2 için 3. Bölgeden alınan zeolit örneğindeki biofilm gelişimi. a)boş zeolit,- b,c,d) zeolit üzerinde biofilm gelişimi.



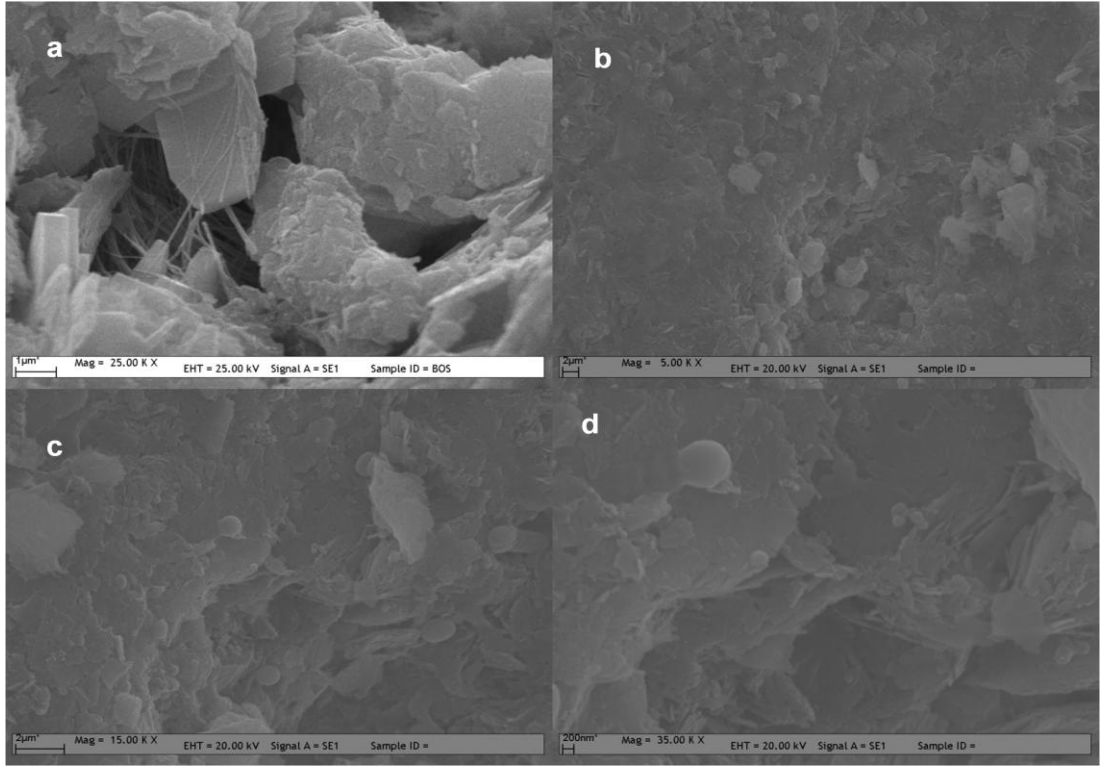
Şekil Ek. 32. Kolon 2 için 4. Bölgeden alınan zeolit örneğindeki biofilm gelişimi. a)boş zeolit,- b,c,d) zeolit üzerinde biofilm gelişimi.



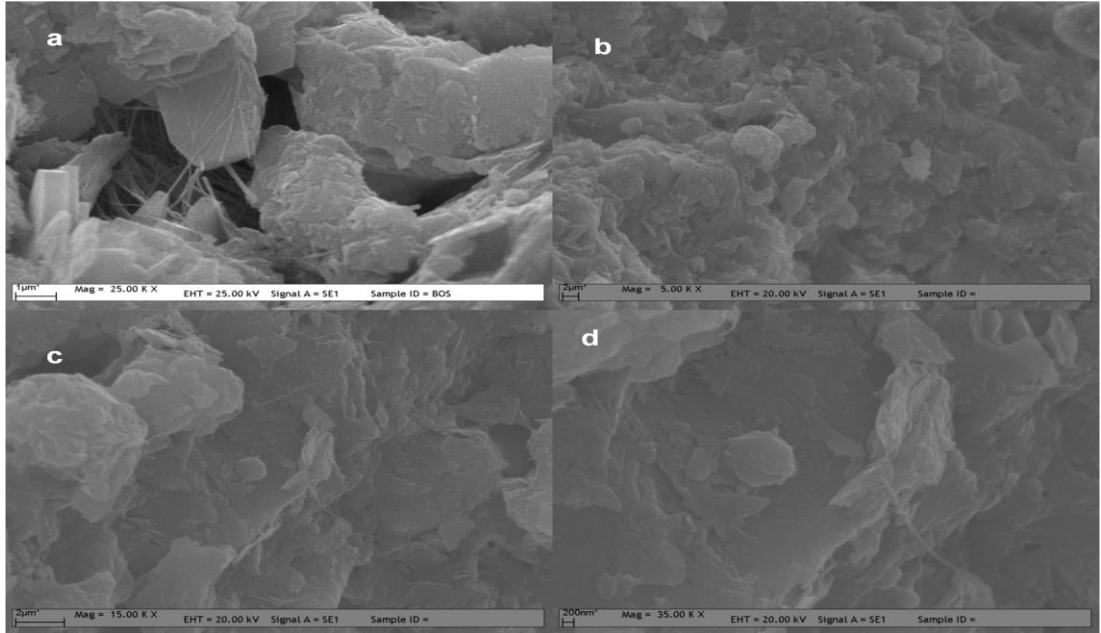
Şekil Ek. 33. Kolon 2 için 5. Bölgeden alınan zeolit örneğindeki biofilm gelişimi. a)boş zeolit,- b,c,d) zeolit üzerinde biofilm gelişimi.



Şekil Ek. 34. Kolon 2 için 6. Bölgeden alınan zeolit örneğindeki biofilm gelişimi. a)boş zeolit,- b,c,d) zeolit üzerinde biofilm gelişimi

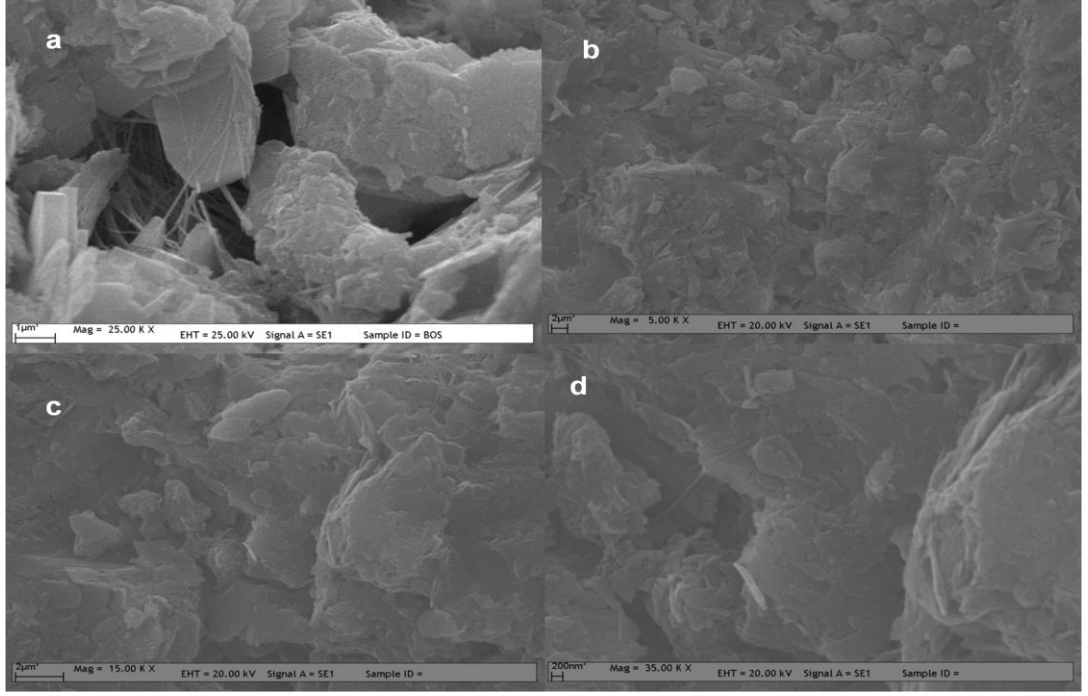


Şekil Ek. 35. Kolon 2 için 1. Bölgeden alınan zeolit örneğinin 105<sup>0</sup>C'de 24 saat bekletilmesi sonucu çekilen SEM fotoğrafı a)boş zeolit,- b,c,d) zeolit üzerinde biofilm gelişimi.

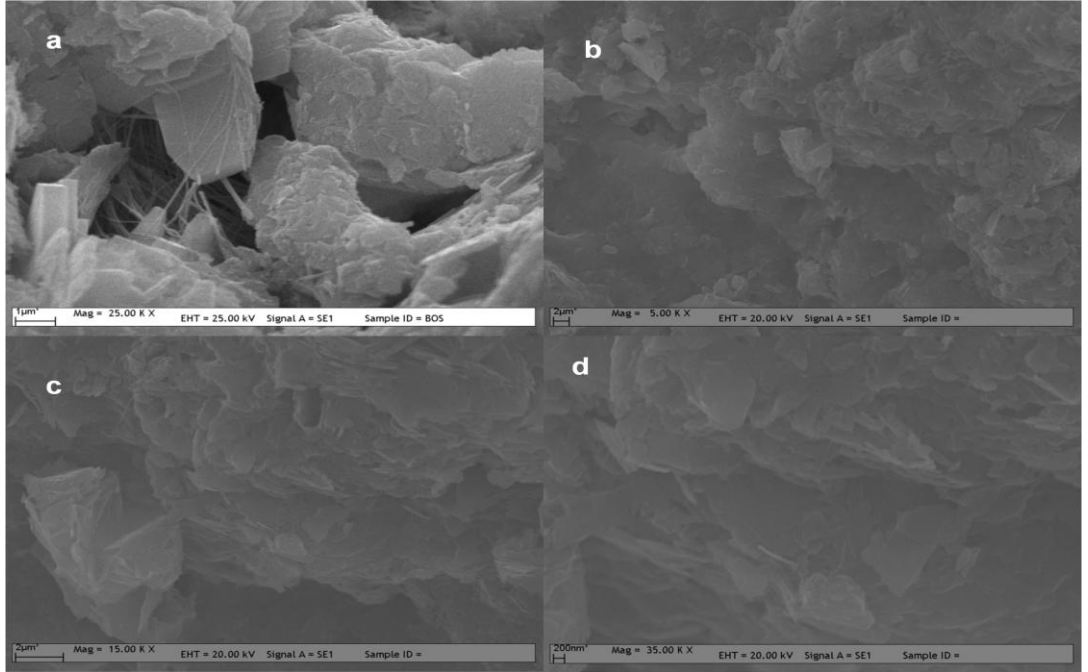


Şekil Ek. 36. Kolon 2 için 3. Bölgeden alınan zeolit örneğinin 105<sup>0</sup>C'de 24 saat bekletilmesi sonucu çekilen SEM fotoğrafı a)boş zeolit,- b,c,d) zeolit üzerinde biofilm gelişimi.





Şekil Ek. 39. Kolon 2 için 3. Bölgeden alınan zeolit örneğinin 550<sup>0</sup>C'de 5 saat yanması sonucu çekilen SEM fotoğrafı a)boş zeolit,- b,c,d) zeolit üzerinde biofilm gelişimi



Şekil Ek. 40. Kolon 2 için 6. Bölgeden alınan zeolit örneğinin 550<sup>0</sup>C'de 5 saat yanması sonucu çekilen SEM fotoğrafı a)boş zeolit,- b,c,d) zeolit üzerinde biofilm gelişimi

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Ayla Bilgin

Doğum Yeri : Artvin/Şavşat

Doğum Yılı : 1977

Medeni Hali : Bekar

Eğitim ve Akademik Durumu:

Lisans 1994-1999 :Ondokuz Mayıs Üniversitesi Çevre Mühendisliği

Yüksek Lisans (2001-2003) :Gazi Üniversitesi Çevre Bilimleri

Yabancı Dil: İngilizce

İş Tecrübesi:

2004 -2006: ENÇEV Ltd.Şti. (Çevre Mühendisi)

2009-Halen : ARMADA Eğitim ve Belgelendirme Enerji Denizcilik  
Sanayi ve Tic. A.Ş. (Çevre Mühendisi)